NEDERLANDSCHE PHYTOPATHOLOGISCHE (PLANTENZIEKTEN-KUNDIGE) VEREENIGING.

TIJDSCHRIFT OVER PLANTENZIEKTEN

ONDER REDACTIE VAN

PROF. DR. J. RITZEMA BOS, M. DE KONING,
IR. N. VAN POETEREN EN PROF. DR. H. M. QUANJER.

Twee en Dertigste Jaargang — 10e Aflevering — OCTOBER 1926

WAARNEMINGEN OVER DE KLAVERSTENGELBRANDZIEKTE

(WITH A SUMMARY: OBSERVATIONS ON CLOVER-ANTHRACNOSE)

DOOR

S. J. WELLENSIEK.

INHOUD.

Blz.

I. Inleiding 266
§ 1. *Opzet van het onderzoek*, p. 266; § 2. *De litteratuur*, p. 266; § 3. *De kultuur van roode klaver*, p. 266.
II. Algemeene beschouwing over de klaverstengelbrandziekte 268
§ 1. *Symptomen*, p. 268; § 2. *Namen*, p. 268; § 3. *Geschiedenis*, p. 269; § 4. *Geografiese verspreiding*, p. 269; § 5. *Ekonomiese beteekenis*, p. 270.
III. Het ziekteverwekkend organisme 271
§ 1. *Isolatie*, p. 271; § 2. *Eigenschappen van het organisme in kultuur*, p. 272; § 3. *De overwintering*, p. 277.
IV. Het ziekteproces 279
§ 1. *Infekties*, p. 279; § 2. *Uitwendige omstandigheden*, p. 280; § 3. *De overbrenging met het zaad*, p. 281.
V. De vatbaarheid der klaversoortenen -variëteiten... 284
VI. Andere klaver-anthracnose-schimmels..... 289
VII. Bestrijding 229
VIII. Samenvatting der voornaamste resultaten..... 293
Summary: Observations on clover-anthracnose 295
Geciteerde litteratuur 298
Verklaring der figuren 301
Explanation of figures 302

I. INLEIDING.

§ 1. OPZET VAN HET ONDERZOEK.

De stengelbrandziekte van roode klaver, veroorzaakt door *Gloeosporium caulivorum* KIRCHNER, richt in sommige jaren in Nederland zeer groote schade aan en moet gerekend worden tot de belangrijkste klaverziekten. Bij het bestudeeren van de litteratuur over het onderwerp in kwestie blijkt, dat verschillende vragen niet of onvolledig zijn opgelost. Het was daarom wenselik deze vragen in onderzoek te nemen.

Hoewel de bedoeling van de hier volgende verhandeling het geven van een algemeene beschrijving der ziekte is, gegrond op een tweejarig onderzoek, zullen enkele punten meer op de voorgrond treden en wel de overwintering van de schimmel, de al of niet overbrenging van de ziekte met het zaad en de vatbaarheid der verschillende klavers.

§ 2. DE LITTERATUUR.

Aangezien de biezonderheden omtrent de ziekte, vermeld in de litteratuur, beter verspreid over de volgende hoofdstukken kunnen worden behandeld, moge hier worden volstaan met een korte algemeene beschouwing.

De meeste auteurs behandelen slechts een klein onderdeel van de ziekte. Zooals nader ter sprake komt, is aan de al of niet overgang van de ziekte met het zaad veel aandacht geschonken. Slechts weinig onderzoekers hebben de overige eigenschappen van het ziekteverwekkend organisme bestudeerd. Verschillende waarnemingen zijn verricht omtrent de verschillen in vatbaarheid der verschillende klavers; slechts zeer weinige hiervan slaan echter op kunstmatig geïnfekteerd materiaal.

De litteratuur, die ontoegankelik is gebleven, werd volledigheidshalve aan het slot der litteratuurlijst op p. 301 vermeld.

§ 3. DE KULTUUR VAN ROODE KLAVER.

Waar de bestudeering van een ziekte van eenig kultuurgewas moet uitgaan van de kultuur zelf, of wel: van de omstandigheden, waaronder de planten worden gekweekt, is het vermelden van enkele biezonderheden uit de kultuur van roode klaver hier op zijn plaats.

Roode klaver is het belangrijkste voedergewas. Men gebruikt het zoowel voor groenvoer — gemaaid en vervoerd of geweid —

als voor gedroogd voer — hooi —. Verder wordt natuurlik zaad geteeld voor de voortkweeking, terwijl bovendien klaver een belangrijke rol speelt als grondverbeteraar. In den regel wordt in het voorjaar (April) onder dekvrucht (tarwe, gerst, rogge, haver) gezaaid. De stoppelklaver in de herfst wordt dan meestal geweid, zelden gemaaid. Het tweede jaar is het eigenlike gebruiksjaar; men maait het gewas nu eenige keeren (meestal twee keer), waarna het omgeploegd wordt. Het tweede jaar wordt het veld slechts zelden geweid. In de streken, waar zaad wordt gewonnen, geschiedt dit van de tweede snede. Voor nadere gegevens zie men b.v. Ten Rodengate Marissen (34).

In het experimenteel werk, waarbij plant voor plant moet kunnen worden behandeld, moeten natuurlik andere kweekwijzen worden toegepast. Voor het kweeken in potjes, hetgeen voor infektieproeven noodzakelik is, kan in een zaaipan worden gezaaid, waarna de kiemplantjes in de potjes worden verspeend. Een middellijn der potten van ± 8 cm. is voldoende. Sneller en makkeliker is het om de zaden te kiemen te leggen in Petrischalen met water-agar; na 2 of 3 dagen kan men dan de gekiemde zaden dierekt in de potjes brengen; vrijwel altijd groeien deze gekiemde zaden tot planten op.

Voor het werk in kassen kan men vrijwel steeds planten in potten gebruiken; de potten worden dan in turfmolm ingegraven. Het voordeel is vooral, dat de planten later eventueel makkelik naar het vrije veld kunnen worden verplaatst. Voor het buiten kweeken der klaverplanten kan men uitgaan van in een kas of bak in potjes opgekweekte planten en deze met potkluit in de volle grond verplanten; het verdient aanbeveling van te voren gaten in de grond te maken met een aardappelpootboor, ter grootte van de potkluit. Men kan ook in-wateragargekiemde zaden dierekt buiten uitleggen, terwijl tenslotte ook dierekt buiten kan worden gezaaid op rijen, die dan later worden uitgedund.

In de verschillende proefreeksen is in het kaswerk gebruik gemaakt van een grondmengsel van klei, zand en wat turfmolm of bladaarde, terwijl de grond voor de proeven in de open lucht bestond uit klei met een weinig turfmolm.

II. ALGEMEENE BESCHOUWING OVER DE KLAVERSTENGELBRANDZIEKTE.

§ 1. SYMPTOMEN.

Rechtstreeks door de ziekte aangetast worden de bladsteelen en de stengels. Op de groene bladsteelen ziet men een zwarte vlek, die meestal rondom de geheele bladsteel zich uitstrekt; tiepies is vervolgens een omknikken van de bladsteel op de aangetaste plaats, waarna het blad spoedig verdroogt en bruin of zwart wordt. Zeer vaak is de bladsteel vlak nabij de inplantingsplaats der blaadjes aangetast.

Op de stengels ontstaan eveneens zwarte vlekken, die zich echter zelden rondom de geheele stengel uitstrekken; zij zijn langwerpig en meestal ellipties. Later ontstaat in het middengedeelte van de vlek een inzinking, die dan bruin van kleur wordt en waarop zich bij vochtig weer fruktifikaties van de zwam vertoonen als licht gekleurde puntjes; tevens ontstaan in de lengterichting van de stengel kleine scheurtjes. Verschillende dezer vlekken kunnen zich vereenigen, waardoor de geheele stengel egaal zwart kan worden en vervolgens verdroogt. Bij sterke uitbreiding van een vlek in de breedterichting van de stengel kan de stengel omknikken en hij geeft dan in het groot het tiepiese ziektebeeld, dat het blad meestal vertoont. Ook wanneer de stengel niet boven de aangetaste plaats omknikt, treedt meer of minder sterke verdroging in van de zich boven de zieke plek bevindende deelen.

Bij een beschouwing van een sterk aangetast veld als geheel valt in de eerste plaats de verdroging der blaadjes op en, bij zeer sterke graad van aantasting, ook de verdroging der stengels. Het veld ziet er dan a.h.w. geschroeid uit. Practici zien stengelbrandbeschadiging wel voor de werking van vorst aan.

Een fraai gekleurde plaat van een stengelbrandzieke klaverplant geven APPEL en RIEHM (2, pl. 7). Verder zie men fig. 1, 2, 3, 4 en 13, aan het eind dezer verhandeling.

§ 2. NAMEN.

De naam „stengelbrand", die een zeer goed idee van de ziekte geeft, is in Holland ingevoerd door SCHOEVERS (40) in navolging van de Duitse naam „Stengelbrenner", het eerst door MEHNER (23) gebruikt in 1901. In verschillende landen — Amerika, België, Duitsland, Engeland, Hongarije, ook wel in Nederland — spreekt men van „anthracnose", welke naam, zooals

bekend, in het algemeen wordt gebezigd voor ziekten, veroorzaakt door een Gloeosporium of Colletotrichum. In Engeland spreekt WARE (45) bovendien van „scorch" (to scorch = schroeien).

§ 3. GESCHIEDENIS.

In 1880 beschreef PECK (29) in Albany een klaverparasiet onder de naam *Gloeosporium Trifolii*, die misschien niet de eigenlike verwekker van de stengelbrandziekte is, doch er in ieder geval nauw mede verwant is. SACCARDO (38) heeft de diagnose van *Gl. Trifolii* PECK overgenomen. In 1896 en later deelde ROSTRUP (35, 36, 37) het voorkomen van deze schimmel in Denemarken mede en in 1899 vonden FRANK en SORAUER (11) het organisme in Oostenrijk. De opmerking van MEHNER (23), dat *Gl. Trifolii* vóór 1901 slechts in Amerika was waargenomen, is dan ook onjuist. In 1902 wees KIRCHNER (17) er op, dat *Gl. Trifolii* slechts de bladeren aantast, terwijl bij de door hem bestudeerde stengelbrandziekte de stengels ook werden aangetast. Hij onderscheidt daarom een nieuwe soort: *Gl. caulivorum*.

Volgens STEWART (43) werd in 1903 voor het eerst *Gl. caulivorum* KIRCHNER in Amerika gevonden; STEVENS en HALL (42) deelen echter mede, dat dit pas in 1906 geschiedde. Wanneer er werkelik verschil bestaat tussen de beide organismen, schijnt — afgaande op de litteratuur — *Gl. Trifolii* wel tiepies Amerikaans te zijn, *Gl. caulivorum* daarentegen tiepies Europees. Intussen beschouwt BAUDYS (3) de beide organismen als identiek; er werden echter geen infectieproeven verricht, zoodat de identiteit niet bewezen is.

Zooals nader ter sprake zal komen, is het organisme, dat de stengelbrandziekte in Nederland veroorzaakt, *Gl. caulivorum* K. De ziekte is in Nederland het eerst beschreven door SCHOEVERS (40) in 1914 en is daarna bestudeerd door JOH^A. WESTERDIJK (46, 47) in 1916 en 1917, terwijl ook FRANCK (10) enkele waarnemingen omtrent de ziekte mededeelt.

§ 4. GEOGRAFIESE VERSPREIDING.

Reeds uit de bespreking der geschiedenis van de ziekte is gebleken, dat de stengelbrand of nauw verwante ziekten zoowel in Europa als in Amerika worden aangetroffen. Wat Europa betreft is de ziekte behalve in Holland vermeld door SAMPSON (39), COTTON (7), WARE (45) en PETHYBRIDGE (30) in Engeland;

door ERIKSSON (9) in Zweden; door ROSTRUP (35, 36, 37) in Denemarken; door MARCHAL (21) in België; door LINHART (18) en anderen in Duitsland; door FRANK en SORAUER (11) en BROZ (4) in Oostenrijk; door HEGYI (15) in Hongarije, door BAUDYS (3) in Tsecho-Slowakije, door LOBIK (19) in Rusland.

In de volgende staten van Amerika zijn anthracnose-ziekten van klaver gevonden: Door PIPAL (32) en GARDNER (13) in Indiana; door STEWART (43) in N. York; door JOHNSON en HASKELL (16) o.a. in Illinois, S. Carolina, Iowa, Missouri; door STEVENS en HALL (42) in Tennessee, Ohio, W. Virginia, Arkansas, Kentucky, Delaware; door PIETERS (31) in Tennessee; door MELCHERS (24) o.a. in Kentucky, Mississippi, Texas, Wisconsin, Idaho.

Wat de verspreiding in Holland betreft, deze is zeer algemeen. In 1925 en 1926 werd de ziekte door schrijver waargenomen in Groningen, Brabant (tusschen Roosendaal en Breda), Land van Maas en Waal, Betuwe, bij Groesbeek, Wolfhezen, terwijl berichten binnen kwamen van Limburg, de Z.-Hollandse Eilanden en Zeeland. Volgens RITZEMA BOS EN SCHOEVERS (33) kan hier de Haarlemmermeer nog aan worden toegevoegd.

Er mag dus worden gekonkludeerd tot een zeer algemeen voorkomen der ziekte, zoowel in Europa als in verschillende staten van Amerika.

§ 5. EKONOMIESE BETEEKENIS.

Uit de boven gegeven beschrijving der ziekte-symptomen volgt dat de schade aan de voor voeder gekweekte klaver bestaat uit blad- en stengelverlies, aangezien de bladeren in de eerste plaats en, bij een verder voortschrijden der ziekte, ook de stengels geheel verdrogen. Bij voor zaadwinning gekweekte klaver is de schade nog veel grooter, daar bij een matige aantasting reeds geen zaad meer wordt gevormd, doordat de bloemhoofdjes verdrogen. De schade bestaat dus, in het algemeen, uit verlies van blad- en stengelmateriaal en uit geringe of geen zaadvorming. Vaak schijnt de tweede snede erger te lijden dan de eerste, hoewel in 1926 de ziekte biezonder sterk in de eerste snede werd aangetroffen; zoo sterk zelfs, dat in Groningen velden omgeploegd moesten worden. Volgens MARCHAL (21) lijdt vooral de eerste snede, terwijl WARE (45) beweert, dat zoowel eerste als tweede snede kunnen worden aangetast.

Hoewel de ziekte bijna ieder jaar vrij algemeen voorkomt, wordt groote schade slechts in bepaalde jaren aangericht. Het

weer heeft groote invloed op de uitbreiding der ziekte. In 1924 leed in Roosendaal de tweede snede vrij sterk; in 1925 werd geen noemenswaardige schade aangericht, terwijl in 1926 op sommige perceelen veel, op andere slechts weinig schade werd teweeggebracht. Hoewel de ziekte dus wel algemeen verspreid is, is de uitbreiding der ziekte en, in verband hiermede, de schade van jaar tot jaar zeer wisselend.

Verschillende auteurs trachtten de schade in cijfers uit te drukken. Zoo vermeldt MEHNER (23) een schade van 25—30 %, LINHART (18) van 50—60 %, ERIKSSON (9) van 25—50 %. Volgens RITZEMA BOS en SCHOEVERS (33) moeten soms velden worden omgeploegd, zoo hevig is de aantasting (verg. p. 270, regel 7 en 6 v.o.).

De nadruk moet er op worden gelegd, dat de ziekte voor zaadklaver nog veel schadeliker kan worden dan voor voederklaver en reeds spoedig tot vrijwel 100 % verlies voert.

Er zij verder op gewezen, dat geen gevallen bekend zijn geworden, die er op wijzen, dat aangetaste klaver voor vervoedering niet meer geschikt is.

III. HET ZIEKTEVERWEKKEND ORGANISME.

§ 1. ISOLATIE.

Het organisme laat zich zeer gemakkelijk isoleeren door aangetaste stengelstukjes oppervlakkig te reinigen met een zwakke sublimaat-oplossing en door ze vervolgens na afspoeling met water op vochtig filtreerpapier, beter echter op een voedingsbodem, te leggen. Vooral pruimenagar voldoet goed. Na drie dagen heeft zich mycelium ontwikkeld, dat overgeënt kan worden (verg. fig. 5), terwijl men ook dierekt een strooi-kultuur kan maken van de op het stengelstukje gevormde sporen. Tenzij anders vermeld, is in de hierna te beschrijven proeven steeds gewerkt met een op boven beschreven wijze uit strooikultuur geïsoleerde schimmel, afkomstig van zieke roode klaver uit Groningen. Bij het bezien van de schimmel op aangetaste stengels bleek deze steeds overeen te komen met *Gloeosporium caulivorum* KIRCHNER. De door KIRCHNER (17) gegeven diagnose luidt aldus: „Vruchthoopjes klein, puntvormig, vele bijeen op langgerekte, verdiepte vlekken van lichtbruine kleur, die door een zwarte rand zijn omgeven, op levende stengels van *Trifolium pratense* L. en deze tot afsterven brengend; conidiën eencellig, kleurloos, sikkelvormig gekromd, 12—22 μ lang, 3.5—5.2 μ dik."

De groei op voedingsbodems in reinkultuur is goed, evenals de sporenvorming. Het gelukte gemakkelik — op later te bespreken wijze — zoowel kiemplanten als volwassen planten te infekteeren en de schimmel het tiepiese ziektebeeld te doen reproduceeren, waarmee bewezen is, dat de geïsoleerde schimmel werkelik de ziekteverwekker is. (Verg. fig. 2, 3 en 4).

§ 2. EIGENSCHAPPEN VAN HET ORGANISME IN KULTUUR.

Groei en fruktifikatie op verschillende voedingsbodems.

Zooals reeds werd medegedeeld, is de groei op pruimenagar goed. Kersenagar voldeed minder goed. WESTERDIJK (47) beveelt gelijke deelen moutagar en kersenagar aan, terwijl MONTEITH (26) aardappelagar gebruikte. De schimmel bleek verder uitstekend te groeien op gesteriliseerde aardappelstengel, klaverstengel, Phaseolus-peul, Phaseolus-stengel, lupinestengel, peen en — zooals nader ter sprake komt — op gesteriliseerde grond.

Op alle door schrijver onderzochte voedingsbodems, behalve op grond, had sporenvorming plaats, vooral zeer overvloedig op aardappelstengel en klaverstengel. In plaat-kultures was de fruktifikatievorm niet altijd makkelik vast te stellen; in de buiskultures op plantenresten werden steeds zeer tiepiese pykniden gevormd. Deze lieten zich zeer goed fixeeren met sterke Flemming of met Gilson's fluid [verg. CHAMBERLAIN (6, p. 26—27 en 225)] en kleuren met Haidenhain's haematoxylin (6, p. 44—48). Foto's van twee op deze wijze verkregen mikrotoomsneden van een pyknide zijn afgebeeld in fig. 6 en 7. Levende pykniden, op een voorwerpglas gebracht, vertoonen zeer fraaie sporanranken, wanneer men zacht op het dekglas drukt (fig. 9); een enkele maal ontstaan sporen-explosies, waarbij de sporen zonder eenige samenhang uit de pykniden treden (fig. 10). Het maakt de indruk, dat minder rijpe sporen fraaie ranken vertoonen, terwijl zeer rijpe sporen niet meer samenhangen.

Bij vergelijking van de fruktifikatievorm van het organisme in de natuur en in kultuur blijken er merkwaardige verschillen te bestaan. In de natuur toch worden tiepiese acervuli gevormd. Een foto van een mikrotoomsnede van de natuurlike fruktifikatievorm, op dezelfde wijze behandeld als het in fig. 6 en 7 afgebeelde materiaal, is gereproduceerd in fig. 8. Er bestaan bovendien belangrijke verschillen in vorm en grootte der conidiën. De vorm der conidiën in de natuur is sikkelvormig gekromd; in cultuur zijn de conidiën meest zuiver cylindervormig.

Wat de grootte der conidiën betreft werden de volgende getallen gevonden als gemiddelden van telkens 25 metingen (tabel 1).

TABEL 1. LENGTE EN BREEDTE DER CONIDIËN VAN GL. CAULIVORUM IN DE NATUUR EN IN KULTUUR OP PRUIMENAGAR.

TABLE 1. LENGTH AND BREADTH OF CONIDIA OF GL. CAULIVORUM IN NATURE AND IN CULTURE ON PRUNE-AGAR.

		gemiddelde in μ (mean in μ)	standaard-afwijking (standard-error)	standaard-afwijking van het gemiddelde (standard-error of mean)	verschil der gemiddelden in μ. (difference of means in μ)
lengte (length)	natuur (nature)	18.38	± 2.45	± 0.49	10.38 ± 0.55
	kultuur (culture)	8.00	± 1.275	± 0.255	
breedte (breadth)	natuur (nature)	4.32	± 0.625	± 0.125	1.92 ± 0.15
	kultuur (culture)	2.40	± 0.425	± 0.085	

Er bestaan dus groote verschillen, zoowel in lengte als in breedte der conidiën, in dezen zin, dat de natuurlik gevormde conidiën grooter zijn dan de in kultuur gevormde.

Bij geen enkele der toegepaste voedingsbodems en kweekwijzen van het organisme is een perfectus-vorm voor den dag gekomen. Ook WESTERDIJK (46, 47), die aanvankelik de mogelikheid veronderstelde van een samenhang met *Pseudopeziza Trifolii*, vond geen perfectus-vorm. De systematiek van het organisme is dus zeer onzeker. Want gaat men af op de eigenschappen in de natuur, dan behoort het organisme tot de Melanconiales; in kultuur vertoont het echter de tiepiese eigenschappen van de Sphaeropsidales en meer in het biezonder van Phoma. Bedenkt men echter hoe kunstmatig de indeeling der Fungi Imperfecti is, dan is het wel het beste om voorloopig de eigenschappen van het organisme in de natuur boven die in kultuur te stellen, wat de systematiese waarde betreft, en de schimmel te blijven rekenen tot de soort *Gloeosporium caulivorum* K. der Melanconiales.

C. M. DOYER (8) ondervond analoge moeilikheden bij de systematiek van Pestalozzia, die in de natuur Melanconiales-

eigenschappen vertoont, in kultuur echter soms pykniden vormt. Een onderscheid met *Gl. caulivorum* K. ligt in het feit, dat Pestalozzia op gesteriliseerde stengels e.d. acervuli vormt, terwijl *Gl. caulivorum* K. op dergelike substraten juist zeer fraaie pykniden vormt.

Temperatuur en mycelium-groei.

Monteith (26) vermeldt als minimum-groeitemperatuur van *Gl. caulivorum* K. op aardappelagar 4° C., als optimum 20° en als maximum een temperatuur onder 32°. Sporenvorming had over de geheele temperatuurreeks plaats.

Mijn waarnemingen komen in hoofdzaak met deze gegevens overeen. Gewerkt werd aanvankelik met pruimenagar en kersenagar. Al spoedig bleek de groei op kersenagar te onregelmatig te zijn voor proeven over temperatuursinvloed op groeisnelheid, zoodat alleen met pruimenagar werd verder gewerkt. Voor de eerste meting verricht werd, werden de schalen eerst bij 20° geplaatst gedurende 2 of 3 dagen, daarna gedurende 1 dag bij 0°. De bedoeling was om uit te gaan van kolonies van niet al te kleine omvang, die hun groei moesten beginnen onder invloed van de verschillende temperaturen. De meting van de kultuurmiddellijnen geschiedde dageliks op hetzelfde uur op 10 achtereenvolgende dagen — tenzij de schaal eerder vol was — en wel langs een aan de buitenonderzijde van de schaal getrokken inktstreep. Bij het aflezen tot op halve millimeters nauwkeurig bewees de door Giltay (14) beschreven pince-nez loupe uitstekende diensten. Dagelikse waarnemingen zijn noodig om eventueele onregelmatigheden in de groei — vaak veroorzaakt door ongelijkmatige samenstelling van de agar — te kunnen konstateeren; dergelike schalen worden dan van de verdere proef uitgesloten. Door de verkregen getallen voor de daggemiddelden door 2 te deelen verkrijgt men de werkelike lengtegroei. De volgende getallen werden verkregen als gemiddelden van telkens 7 schalen bij iedere temperatuur (tabel 2).

Tabel 2. Gemiddelde dagelikse groei van het mycelium van Gl. caulivorum bij verschillende temperaturen in m.m.

Table 2. Average daily growth of the mycelium of Gl. caulivorum at different temperatures in m.m.

temperatuur (temperature)	0°	4°	8°	12°	16°	20°	24°	28°	30°
groei growth	0.0	0.2	0.5	1.25	1.6	2.5	2.2	0.1	0.0

Bij 4° heeft dus nog eenige groei plaats, al is deze ook zoo gering, dat men mag besluiten tot een minimum in de nabijheid van 4°. Bij 20° is een duidelijk optimum, terwijl het maximum niet ver van 28° ligt. Er werd nog nagegaan of een verblijf van 8 dagen bij 30° doodelik werkte op de schimmel. Hiertoe werden de schalen naar de optimale temperatuur gebracht, waarbij de groei weer inzette, echter pas na 3 dagen. Door groeiende kultures bij 30° te plaatsen treedt onmiddelik stilstand in de groei op. Het schijnt dus, dat bij 30° een voor groei noodige faktor (enzym?) wordt beschadigd en dat deze bij gunstiger temperatuur eenige tijd noodig heeft om zich te herstellen.

De sporenvorming verloopt vrijwel parallel met de myceliumontwikkeling.

Enkele eigenaardigdeden, waargenomen bij de beschreven meetproeven, mogen nog worden vermeld. In vrijwel alle reeksen nam de dagelikse groei iets toe, naarmate de kolonie reeds een grootere uitbreiding had verkregen. De indruk werd gewekt, dat de groei-toename per tijdseenheid evenredig is aan de grootte van de kultuur. Er bleek verder, vooral bij de lagere temperaturen, een duidelik groeirythme te bestaan. Zoo werden b.v. reeksen gevonden van dagelikse groeitoenamen als deze: 1 — 1 — 0 — 1.5 — 0.5 — 1.5 — 0 — 0.5 — 1.5.

Licht en mycelium-groei.

Door in een op 20° vrijwel konstante kamer naast elkaar kultures te plaatsen in elektries licht en in donker werd nagegaan of het licht ook de groeisnelheid van het mycelium beïnvloedde. Dagelikse metingen waren hier natuurlik uitgesloten en werden vervangen door vijfdagelikse-. In totaal werden 16 paren plaat-kultures vergeleken en bij geen enkele werd invloed gevonden van licht of donker op de groeisnelheid van het mycelium. Wel echter op de algemeene groeiwijze. Dit laat zich het best illustreeren door te verwijzen naar fig. 14, waarin links een donker-kultuur en rechts een licht-kultuur is afgebeeld. In het licht heeft een veel grootere vorming van luchtmycelium plaats.

Temperatuur en sporenkieming.

De sporen van *Gl. caulivorum* kiemen in een vochtige kamer in water zeer gemakkelik. Er werd getracht de kieming te vergelijken van de sporen in bij verschillende temperaturen geplaatste vochtige kamers. Dit is betrekkelik moeilik, omdat de kieming zich niet in een getal laat uitdrukken en men dus slechts op een beeld moet afgaan. Bij 4° werd na 4 dagen eenige kieming gevonden. Bij 8°, 12°, 16°, 20° en 24° had reeds na 2

dagen sterke kieming plaats, het sterkst wel bij de 3 laatstgenoemde temperaturen. Bij 28° had na 4 dagen eenige kieming plaats gehad, bij 30° werd na 6 dagen nog geen kieming gevonden.

De sporenkieming schijnt niet zoo sterk door de temperatuur te worden beïnvloed als de mycelium-groei, terwijl ook bij lagere temperaturen krachtige kieming wordt aangetroffen.

Licht en sporenkieming.

Na herhaalde proefnemingen bleek, dat het licht geen invloed op de sporenkieming uitoefende. Dit werd aanvankelik gedacht, doch bij voortgezette proefnemingen bleek het aanvankelik waargenomen verschil te zijn veroorzaakt door de hoeveelheid sporen, aanwezig in de hangende druppel. En wel in dezen zin, dat de kieming minder werd, naarmate meer sporen opeengehoopt lagen.

Variaties.

Eenige malen werden in plaatkultures eigenaardige variaties aangetroffen, waarvan een tweetal hier beschreven zullen worden.

De eerste trad op in den vorm van een sektor, die veel sneller groeide dan het overige deel der kultuur en de rand der schaal reeds bereikt had voor de rest der schaal halverwege was. Na overenting uit de wel en de niet gevariëerde sektoren bleek de afwijking niet meer terug te komen.

De tweede variatie — die meermalen werd gevonden — bestond uit een witte sektor in de normaal donker gekleurde kultuur. Na overenting bleef deze variatie aanvankelik konstant, liep na 2 keer enten echter weer geleidelik terug (zie fig. 15 en 16).

Blijkbaar zijn beide variaties dus modifikaties — de tweede een modifikatie van langere duur — en geen saltaties of mutaties.

Konklusies.

Vatten wij de hoofdpunten met betrekking tot de eigenschappen van het organisme in kultuur kort samen, dan blijkt het volgende.

De schimmel groeit makkelik op agar-bodems en op verschillende gesteriliseerde plantendeelen. In kultuur worden pykniden gevormd met veel kleiner sporen dan de in de natuur in acervuli gevormde. Een perfectus-vorm is niet bekend.

Het temperatuur-minimum, -optimum en -maximum bedraagt resp. ongeveer 4°, 20° en 28°, zoowel voor de myceliumgroei als voor de sporenvorming. Licht beïnvloedt niet de groeisnelheid van het mycelium, wel de groeiwijze; er wordt in licht n.l. meer luchtmycelium gevormd.

De sporenkieming verloopt tussen 8° en 24° krachtig, terwijl ook bij 4° en 28° nog eenige kieming plaats heeft. Licht beïnvloedt de sporenkieming niet.

§ 3. DE OVERWINTERING.

De eenige mededeeling in de litteratuur over de overwintering van het organisme is van KATHLEEN SAMPSON (39), die vermoedt, dat de schimmel in de stoppel op het veld de winter doorkomt. Deze mogelikheid is inderdaad zeer groot, hetgeen nader moge blijken uit de volgende waarnemingen. In 1925 werd een groot aantal roode klaverplanten (± 400) deels in een kas geïnfekteerd en daarna buiten geplant, deels dierekt op het veld geïnfekteerd. In de herfst werden alle planten boven de grond afgesneden, echter zoodanig, dat enkele aangetaste deelen bleven staan. In April 1926 vertoonde de ziekte zich reeds weer op de jong uitloopende plantendeelen en een andere bron van herkomst dan de stoppel is hier niet denkbaar, aangezien nooit eerder zieke planten op het proefveld hadden gestaan.

Bovendien gelukte het de schimmel te isoleeren van op 2 April 1926 te Roosendaal verzameld materiaal en wel niet alleen van jonge plantendeelen, doch ook van de stoppel.

Naast deze mogelikheid van overwintering in de stoppel moet genoemd worden de mogelikheid van overwintering in de grond. Deze mogelikheid wordt waarschijnlik door allereerst aan te toonen, dat de schimmel op grond kan leven en verder door aan te toonen, dat hij weerstand biedt aan temperaturen, zooals deze 's winters voor kunnen komen.

De groei op gesteriliseerde grond in buizen en wel bladaarde, klei, veen en zand, was uitstekend. Zoowel na enting uit een plaatkultuur, waarbij een klein stukje agar meekwam als na enting met een sporensuspensie in water trad groei op, vooral bij 16°, 20° en 24°, echter ook — zij het zeer langzaam — bij 4° en 8°. Luchtmycelium ontwikkelde zich vooral op veen, bladaarde en klei (zie fig. 11). Dat ook op zand groei plaats had, werd aangetoond door eenige tijd na de enting uit de grondkultuur weer op schalen te enten; steeds trad onmiddelik groei op.

Als voorloopige proef om de weerstand tegen lage temperaturen na te gaan werden 31 grondkultures (10 op bladgrond, 10 op klei, 6 op veen en 5 op zand) gedurende 11 dagen bloot gesteld aan een temperatuur, wisselend van —6° tot —19° met een gemiddelde van omstreeks —14°. Dit geschiedde door de buizen te brengen in de pekelbak van de koelinstallatie. Na be-

eindiging der proef werden alle kultures overgeënt op schalen en bij 20° geplaatst; zonder uitzondering was bij alle na 2 dagen groei waar te nemen.

Een proef op grootere schaal werd vervolgens aldus ingericht. Een reeks buizen met gesteriliseerde grond werd geënt met een sporensuspensie. (In de voorloopige reeks was geënt uit een plaatkultuur). Nadat bij 20° de kultures krachtig waren ontwikkeld, werd een gedeelte gedurende 14 dagen gebracht bij een temperatuur, die konstant werd gehouden op —22°. Een ander gedeelte werd 5 dagen op —22° gehouden, daarna 4 dagen bij +20° en tenslotte weer 5 dagen bij —22°. Van beide partijen werden alle kultures na afloop der proef overgeënt op schalen en geplaatst bij 20°. De meeste kultures toonden na 2 dagen groei, de overige na 3 dagen, geen bleek ook maar eenigermate beschadigd (verg. fig. 12). De eerste partij (temperatuur niet gewisseld) bestond uit 13 kultures op bladgrond, 12 op klei, 9 op veen, 13 op zand, terwijl de tweede bestond uit 5 op bladgrond, 5 op klei, 4 op veen, 4 op zand, in totaal dus 65 kultures.

Het is dus duidelijk, dat de schimmel op grond kan leven en een temperatuur van —22° gedurende 14 dagen kan verdragen zonder hier ook maar de minste schade van te ondervinden. Wisseling van temperatuur maakt geen verschil met het verblijf bij een konstante lage temperatuur.

Door deze twee feiten: groei op grond en het weerstand bieden aan lage temperaturen, is de mogelikheid gegeven voor een overwintering van het organisme in het veld buiten de klaverplanten. Deze mogelikheid voor *Phytophthora infestans* (Mont.) DE BY is onlangs aangetoond door HELENA DE BRUYN (5).

Dat van besmette grond een sterke infektie kan uitgaan is gebleken door gesteriliseerde grond in bakken te besmetten met de schimmel en door hier vervolgens klaver in te zaaien. Nadat aanvankelik de ontwikkeling van de planten in de besmette grond niet verschillend was geweest van die in de niet besmette kontrole-grond, trad op een zeker ontwikkelingsstadium de ziekte in de planten in de bakken met besmette grond in zulk een hevige mate op, dat spoedig alle planten stierven. Fig. 13 illustreert dit geval voor Roosendaalse roode klaver; volkomen gelijke resultaten werden verkregen met Brabantse- en met overblijvende roode klaver. In deze proeven is de ziekte eerst sterk opgetreden, nadat de grond eenige tijd niet begoten is geweest; deze kwestie komt nader ter sprake (zie p. 281).

Het is nooit gelukt om in kultures op grond sporen aan te treffen. Mogelik is het, dat deze in de natuur wel op grond

worden gevormd en zeer waarschijnlik is het zelfs, dat ze op plantenresten in de grond, zooals klaverstoppels, worden gevormd, aangezien dit in buizen ook geschiedt.

Volgens de resultaten van het experiment kan de schimmel op grond leven en aldaar zeer lage temperaturen — veel lager dan in werkelikheid in de winter worden aangetroffen — verdragen. Sporen worden echter slechts op plantenresten gevormd. In ieder geval kan van besmette grond infektie uitgaan. Hoe lang de schimmel op grond saprofyties kan leven is nog niet uitgemaakt, doch naar analogie met andere gevallen is dit vermoedelik wel verscheidene jaren.

Als derde mogelikheid van verblijf gedurende den winter zou het zaad kunnen worden genoemd. Deze mogelikheid, — die op grond van het onderzoek niet waarschijnlik is — komt in het volgende hoofdstuk nader ter sprake.

IV. HET ZIEKTE-PROCES.

§ 1. INFEKTIES.

Reeds op p. 272 werd terloops medegedeeld, dat infekties zoowel op kiemplanten als op oudere planten gemakkelik zijn tot stand te brengen. De gevolgde methoden waren aldus.

Kiemplanten werden in potjes in een kas gekweekt en besproeid met behulp van een vaporisator met een sporen-suspensie in water. Deze laatste was verkregen door in schalen met van sporen voorziene kultures een weinig water te brengen en door vervolgens met een entnaald de sporen los te maken, eenvoudig door langs de oppervlakte van de kultuur te vegen. Na filtreeren door een wattenprop verkrijgt men aldus een zeer goed bruikbare sporen-suspensie. De geheele bewerking geschiedt natuurlik onder zoo steriel mogelike omstandigheden. Na de infektie worden de potjes door afdekken met glas in een vochtige atmosfeer gehouden; bedekken van het glas met vochtig gehouden filtreerpapier bevordert het vochtig-blijven van de atmosfeer. In den regel werd 3 of 4 dagen na de eerste bespuiting met sporen een tweede toegepast. Omstreeks 10 of 12 dagen na de eerste bespuiting traden meestal de eerste symptomen op. Aangezien klaverkiemplantjes nog geen hoofdstengel bezitten, bestonden de symptomen uit den aard der zaak uit de zwarte vlekken op de bladsteelen en uit een omknikken van deze (zie fig. 4).

Infekties op oudere planten werden op het veld verricht en wel door een stukje schimmelkultuur op agar tegen stengel of

bladsteel te brengen, het in watten in te pakken en het geheel vast te maken door om de watten hechtpleister te bevestigen. Bij gunstig weer traden na omstreeks 10 of 14 dagen ziektesymptomen op (verg. fig. 2 en 3).

Noch bij de kiemplant-infekties, noch bij de infekties der volwassen planten is dus verwonding noodig. MEHNER (23) in 1901 en FULTON (12) in 1910 vermeldden, dat lichte verwonding voor de infektie zeer gewenst is en anderen namen deze uitspraak over. Noodzakelik is verwonding echter geenszins.

Op de aangetaste plekken van de volwassen geïnfekteerde planten ontstaan bij vochtig weer spoedig sporen, van welke uit nieuwe infekties plaats vinden. Dat de ziekte zich snel kan verspreiden blijkt uit de volgende proef. In April 1925 werden 2 rijen in een kas geïnfekteerde roode klaverplanten buiten geplant, aan weerszijden omgeven door 2 rijen gezonde planten. In Junie waren verreweg de meeste der aanvankelik gezonde planten ziek geworden.

Zeer vermoedelik ontstaat een geheele reeks vlekken op een stengel door even zoovele lokale infekties. Door n.l. kultures in te zetten van de aangetaste stukken en van de daar tussen liggende stengeldeelen verkrijgt men slechts schimmelgroei uit de aangetaste deelen.

We kunnen op grond van het boven behandelde dus de volgende, vrij eenvoudige, levensgeschiedenis van de parasiet opstellen. In het voorjaar worden van uit de klaverstoppels of de grond jonge groeiende plantendeelen aangetast. Hierop ontstaan sporen en deze kunnen weer nieuwe infekties doen plaats vinden. In de herfst en winter blijft de schimmel over in de stoppel of in de grond en hieruit komen het volgende voorjaar de eerste aantastingen. Alles echter onder voor de ontwikkeling van de parasiet gunstige omstandigheden.

§ 2. UITWENDIGE OMSTANDIGHEDEN.

FULTON (12) en BAUDYS (3) geven beide aan, dat groote vochtigheid voor de ontwikkeling der ziekte gunstig is; FULTON beweert verder, dat warm weer gunstig is, terwijl volgens BAUDYS sterke wisselingen in temperatuur gunstig zijn.

Uit de bespreking van de invloed der temperatuur op de groeisnelheid van het mycelium is gebleken, dat de schimmel zoo goed als niet meer groeit bij temperaturen boven 24°. Daarentegen heeft bij de betrekkelik lage temperatuur van 8° nog eenige duidelike groei plaats. Het organisme is dus blijkbaar aangepast aan een gematigd klimaat.

Monteith (26) vermeldt, dat de temperatuursinvloed op de infektie analoog verloopt aan die op de mycelium-groei. Dat temperaturen, hooger dan omstreeks 25°, voor de infektie schadelik zijn, is duidelik gebleken bij de kas-infekties. Liep de gemiddelde temperatuur voor langeren tijd hooger dan het genoemde punt op, dan slaagden de infekties niet. Daarentegen hadden infekties zeer vroeg in het voorjaar bij een temperatuur van omstreeks 10° succes, zij het ook na langeren duur. Dat wisseling van temperatuur een biezonder gunstige invloed heeft, zooals Baudys vermoedde, is geenszins bewezen.

Naast een zekere temperatuur is voor goede ontwikkeling van de schimmel een groote vochtigheid gewenst. Dit blijkt zeer frappant bij veldwaarnemingen. In het land van Maas en Waal en in Groningen werd in 1926 waargenomen, dat de ziekte veel heviger optrad in perceelen, waar tengevolge van een dichte, welige stand een groote vochtigheid heerste. De behoefte aan veel vocht is trouwens voor het geheele schimmelrijk voldoende bekend.

Daarentegen schijnt droogte in dezen zin gunstig voor het optreden der ziekte te werken, dat het de planten vatbaarder maakt. In overeenstemming hiermee is een opmerking van Baudys (3), dat in 1923 in Moravië de ziekte het sterkst optrad in velden, die van de droogte leden. En verder zij herinnerd aan de op p. 278 beschreven en in fig. 13 afgebeelde grondinfektieproef, waarbij de ziekte eerst sterk optrad, nadat de bakken — geïnfekteerde- zoowel als kontrole-bakken — eenigen tijd opzettelik niet waren gegoten. Weliswaar is in deze proef geen kontrole tegelijkertijd genomen, doch als zoodanig kan een eenige maanden eerder genomen grondinfektieproef worden beschouwd, waarbij geregeld werd gegoten en waarbij de ziekte niet optrad in een periode, waarin zij wel optrad in de tweede proef. De eerste proef moest worden onderbroken door gebrek aan kasruimte.

Dat in vele jaren de tweede snede erger wordt aangetast dan de eerste, zou ook verklaard kunnen worden door invloed van een drogere zomer aan te nemen na een vochtiger voorjaar.

§ 3. DE OVERBRENGING MET HET ZAAD.

Reeds in de inleiding werd terloops opgemerkt, dat verschillende onderzoekers het al of niet voorkomen van ziektekiemen op, en de verspreiding van de ziekte met het zaad, hebben behandeld.

Rostrup (35, 36, 37) vermoedde in 1896 reeds, dat *Gl. Trifolii*

met Amerikaans zaad in Europa was gebracht. Volgens MEHNER (23) echter was in 1901 over de verspreiding met het zaad niets bekend. LINHART (18) achtte in 1902 de verspreiding met het zaad zeker, aangezien met het zaad ook resten van aangetaste stengels kunnen worden uitgezaaid; het zaad zelf werd door hem niet aangetast gevonden. KIRCHNER (17) achtte echter in hetzelfde jaar de zaad-verspreiding niet waarschijnlijk, omdat hij vaststelde, dat de Europeese schimmel een andere is dan de Amerikaanse (verg. p. 269) en er dus geen verspreiding met Amerikaans zaad zou hebben plaats gehad.

Daarna verscheen eerst in 1915 een mededeeling van HEGYI (15), die verspreiding met het zaad aanneemt, omdat in enkele gevallen planten uit zaad van bepaalde herkomst veel eerder ziek werden dan van andere herkomst. MINDERHOUD (25) gaf in 1917 aan, dat overgang met het zaad wel zeker is; motieven noemt hij niet. JOH^A. WESTERDIJK (46, 47) vond in 1917 geen schimmel op klaverzaad, terwijl zij het volgende jaar mededeelde, dat kunstmatig besmette zaden in den regel gezonde kiemplanten gaven; op den duur werden dan echter wel de bloeistengels ziek. Kontrole is echter in deze proeven blijkbaar niet genomen.

In Versl. en Med. van den Plantenziektenkundigen Dienst no. 11 is in 1920 vermeld, dat er verschillende aanwijzingen zijn, die op overbrenging van de ziekte met het zaaizaad wijzen. Speciale proeven gaven echter een negatief resultaat.

KATHLEEN SAMPSON (39) slaagde er in 1921 in om zieke planten te kweeken uit kunstmatig geïnfekteerde zaden. Dat echter de ziekte in de natuur met het zaad overgaat, is hiermee niet bewezen. Integendeel deelde FRANCK (10) onlangs mede, dat het nooit gelukt is de schimmel te ontdekken op zaad van aangetaste velden. RITZEMA BOS en SCHOEVERS (33) vermeldden in 1923, dat overgang met het zaad wordt aangenomen; het is echter niet bekend of de zwam zelf in het zaad dringt, dan wel of de overgang plaats heeft met aangetaste plantenresten of eenvoudig door uitwendig aan de zaden klevende conidiën.

WARE (45) is van meening — zich grondende op waarnemingen van anderen —, dat er wel overgang plaats heeft. Daarentegen geven het volgende jaar (1924) APPEL en RIEHM (2) aan, dat overgang met het zaad niet voldoende is vastgesteld. Hetzelfde jaar deelt BAUDYS (3) mede, dat er wel overgang met het zaad plaats heeft; motieven voor deze uitspraak zijn mij niet duidelik geworden.

Bij kritiese beschouwing van de litteratuur blijkt er eigenlijk

slechts één motief te zijn vóór de verspreiding met het zaad, n.l. het feit, dat planten uit zaad van bepaalde herkomst eerder of sterker ziek worden dan van andere herkomst. In geen der waargenomen gevallen echter is onomstootelik vastgesteld, dat het zaad werkelik van zieke planten afkomstig was. En verder zijn deze feiten ook zeer goed verklaarbaar door verschillen in vatbaarheid aan te nemen. Zijn er dus geen andere motieven te vinden dan het boven genoemde, dan mag de overgang met het zaad worden betwijfeld. Voor zoover er proeven vermeld zijn, is nooit van overgang iets gebleken. Wel vermoedt KATHLEEN SAMPSON, op grond van haar infektieproeven, dat uit besmet zaad zieke planten zullen groeien, doch anderen vonden, dat besmetting van het zaad in de natuur niet voorkomt.

Kan men dus op grond van de litteratuur de overgang met het zaad ten sterkste betwijfelen, men wordt door de thans te beschrijven proeven in deze meening zeer gesterkt.

In 1925 werd door vriendelike tussenkomst van Ir. J. D. KOESLAG zaad ontvangen van 32 velden roode klaver uit Roosendaal, op vele waarvan in het vorige jaar, waarin de oogst had plaats gehad, de stengelbrandziekte in erge mate was opgetreden. Var alle 32 partijen werden 2 veldjes bezaaid en na opkomst gedund tot 100 planten ieder. Het zaad van één der beide veldjes van iedere partij was vantevoren behandeld met een 1 $^0/_{00}$ sublimaat-oplossing gedurende een half uur om na te gaan of bij eventueele overgang met het zaad deze behandeling effektief zou zijn. Geen enkele plant is echter ziek geworden, zoodat — bij uitschakeling van de ontsmette partijen — 3200 zaden van grootendeels zieke velden uitsluitend gezonde planten hebben gegeven.

Het bezwaar van deze proef is, dat niet zeker is uitgemaakt in hoeverre het zaad werkelik van zieke planten afkomstig is geweest. Dit bezwaar is echter opgeheven in de volgende proef. Van in het voorjaar 1925 kunstmatig geïnfekteerde planten werd in de herfst van hetzelfde jaar zaad gewonnen. Makkelik was dit niet, daar tegenvolge van de ziekte slechts weinig zaad was gevormd, doch er werden ruim 200 zaden geoogst, die in een bak werden uitgezaaid en goed kiemden. Geen symptomen van de ziekte traden op. Er kwamen 192 planten de winter door en deze bloeiden in het voorjaar van 1926, zonder dat er één ziek was geworden.

In 1926 werden nog eens omstreeks 400 zaden van zieke planten gezaaid, deels in een kas, deels buiten. Verschillende kiemden niet, doch de 182 kiemplanten, die ontstonden, vertoonden geen van alle symptomen van klaverstengelbrand. Bij enkele werd

een bruin-wording en afsterving van het hypocotyle lid gevonden, doch dit is geen symptoom van stengelbrand en bovendien gelukte het niet uit deze planten een schimmel te kweeken, zoodat deze aantasting vermoedelik niet op schimmelwerking berust.

Er is ook geprobeerd om zaad te besmetten met sporen, zooals KATHLEEN SAMPSON dit heeft gedaan, doch uit deze zaden zijn evenmin zieke planten gegroeid.

Mej. Dr. L. C. DOYER was zoo welwillend de in de proeven van 1926 gebruikte monsters te onderzoeken op gezondheidstoestand volgens de methoden van het Proefstation voor Zaadcontrole, zonder dat zij vantevoren op de hoogte was gesteld met de behandeling der zaden. Het resultaat was, dat geen sporen werden gevonden op de kontrole-partij, evenmin als op het zaad van zieke planten met uitzondering van 1 Alternariaspore. Op de kunstmatig geïnfekteerde zaden werden sporen gevonden, die in vorm en grootte overeenkwamen met de sporen van *Gl. caulivorum* K. in kultuur. Dit resultaat bevestigt dus de straks beschreven uitkomsten.

Terloops zij medegedeeld, dat in verband met een eventueele overgang van de ziekte met het zaad de invloed van de duur eener behandeling met een $1^0/_{00}$ oplossing van sublimaat op de kiemkracht van het zaad is nagegaan. Gebleken is, dat een korte behandeling (2 of 5 minuten) schadeliker werkte dan langere duur van inwerking (20 of 30 minuten). Analoge resultaten zijn door andere onderzoekers vermeld, b.v. door MULLER (27) met betrekking tot de werking van een formaline-oplossing op tomaten- en selderijzaad.

Bezien wij de resultaten van de proeven omtrent overgang van de ziekte met het zaad als geheel, dan ligt de konklusie voor de hand, dat een dergelike overgang niet plaats vindt. Iets anders is het natuurlik, dat tussen het zaad resten van aangetaste stengels kunnen voorkomen, die de ziekte overbrengen. Of echter, ook al komen deze resten voor, een sterke infektie van hen uitgaat, is nog lang niet zeker; de mogelijkheid bestaat intussen.

V. DE VATBAARHEID DER KLAVERSOORTEN EN -VARIËTEITEN.

De klaverstengelbrandziekte is allereerst een ziekte van roode klaver; zij is slechts van ekonomiese beteekenis voor dit gewas. Enkele andere klaversoorten of verwanten van hen zijn echter

ook vatbaar, zij het meest in geringe mate. En verder komen in de verschillende groepen van klavers, b.v. in de roode klavers, groote verschillen in vatbaarheid voor, zoowel tussen de variëteiten onderling als tussen de individuen van één variëteit.

Bezien wij allereerst de litteratuur over deze kwestie, dan blijkt, dat deze te verdeelen is in 2 groepen, al naar de auteurs zich bepaalden tot veldwaarnemingen onder natuurlike infektieomstandigheden, dan wel kunstmatige infekties verrichtten. Tot de eerste groep moeten de volgende waarnemingen worden gebracht.

KIRCHNER (17) vond Noord-Franse roode klaver sterk vatbaar. Volgens LINHART (18) is lucerne (*Medicago sativa*) niet vatbaar. MALKOFF (20) nam waar, dat Oost Noord-Amerikaanse roode klaver zeer vatbaar was; Zuid-Franse en Italiaanse: sterk; Balties Russiese en Noord-Franse: tamelik sterk; Steiriese, Sileziese, Pfaltiese en West Noord-Amerikaanse: weinig; Pruisiese en Galiciese: iets; Boheemse, Zuid-Russiese, Poolse, Kanadeese: niet.

Volgens ERIKSSON (9) wordt Zweedse bastaardklaver (*Trifolium hybridum*) soms aangetast. SCHOEVERS (40) vermeldt echter, dat deze soort onvatbaar is. Europeese roode klaver is volgens HEGYI (15) resistenter dan Amerikaanse en VAVILOV (44) bevestigt deze waarneming.

Volgens KATHLEEN SAMPSON (39) [zie ook STAPLEDON (41)] zijn laatbloeiende roode klavers minder vatbaar dan vroegbloeiende. Verder vond zij groote individueele verschillen in de verschillende variëteiten. Dit laatste bevestigt WARE (45).

BAUDYS (3) is de eenige onderzoeker, die aangeeft, dat ook witte klaver wordt aangetast. Volgens FRANCK (10) is Zuid-Europees en Amerikaans zaad van roode klaver zeer gevoelig in vergelijking met ons inlands zaad. Een analoge waarneming deelt MONTEITH (26) voor Amerika mede; sommige in Amerika geïmporteerde klavers zijn meestal vatbaar; verschillende Amerikaanse zijn resistent.

Kunstmatige infekties zijn verricht door FULTON (12), door JOH^A. WESTERDIJK (47) en door KATHLEEN SAMPSON (39).

FULTON slaagde er in infekties tot stand te brengen op *Tr. pratense, Tr. pratense var. perenne, Tr. hybridum;* niet op *Tr. repens* en op *Medicago sativa.*

JOH^A. WESTERDIJK verkreeg infekties op roode klaver, niet op witte en Zweedse bastaard-klaver en op lucerne (behalve 1 plant).

KATHLEEN SAMPSON infekteerde met succes *Tr. suaveolens, Tr. hybridum, Tr. repens*; niet: *Tr. medium, Tr. incarnatum, Medicago lupulina, Med. sativa.*

De resultaten der verschillende onderzoekers stemmen dus niet steeds met elkaar overeen. Zooals in het volgende hoofdstuk nog nader ter sprake komt, is het twijfelachtig of alle onderzoekers wel met hetzelfde organisme hebben gewerkt. En verder moet gedacht worden aan de mogelikheid van het bestaan van verschillend gespecialiseerde rassen van de parasiet in de verschillende streken der wereld, terwijl ook verschillen onder de door verschillende onderzoekers waargenomen klavers waarschijnlik zijn. Hoe dit zijn moge, de vatbaarheid der verschillende klavers in Nederland ten opzichte van het in Nederland voorkomende organisme, is blijkens het bovenstaande slechts terloops onderzocht in kunstmatige infektieproeven, die toch slechts het eenige middel vormen om volledig uitsluitsel te krijgen. Het thans te beschrijven onderzoek geeft een idee omtrent de vatbaarheidsverschillen.

Iedere te onderzoeken klaver werd zoowel in de kas als op het veld geïnfekteerd op de op p. 279—280 beschreven methoden. Minstens weden 15 planten in de kas en 10 op het veld geïnfekteerd en wel in 1925 en in 1926, zoodat minstens 50 infekties in iedere partij werden verricht, behalve in de eerst in 1926 ontvangen wondklaver, esparcette, serradella en remontant roode klaver, waarop 25 infekties werden verricht. Steeds werden de noodige kontroleplanten gekweekt. Traden ziektesymptomen in eenige partij geïnfekteerde planten op, dan werden steeds van eenige planten kultures ingezet en slechts op grond der resultaten hiervan geschiedde de beoordeeling: vatbaar of onvatbaar. Afgaande op de graad van aantasting werd vervolgens beoordeeld of de partij in meerdere of mindere mate vatbaar was.

Er werd gewerkt met variëteiten van roode klaver (*Tr. pratense* L.), witte klaver (*Tr. repens* L.), Zweedse bastaardklaver (*Tr. hybridum* L.), inkarnaatklaver (*Tr. incarnatum* L.), lucerne (*Med. sativa* L.), hopperupsklaver (*Med. lupulina* L.), rolklaver (*Lotus corniculatus* L.), wondklaver (*Anthyllus vulneraria* L.), esparcette (*Onobrychus sativa* Lam.) en serradella (*Ornithopus sativus* Brot.). De zaadmonsters waren afkomstig van de Groninger Zaaizaadvereeniging, Homme ten Have en Turkenburg, terwijl door zeer gewaardeerde bemiddeling van Prof. H. K. H. A. Mayer Gmelin te Wageningen monsters ontvangen werden van Vilmorin, Van der Have, uit Denemarken en van een door Prof. Mayer Gmelin zelf uit kruising van roode en witte klaver gekweekte „witbloeiende roode klaver"; bovendien zond Dr. A. J. Pieters van het Bureau of Plant Industry te Washington een monster van de „Tennessee disease resistant red clover".

De volgende resultaten werden verkregen:

Roode klaver (*Tr. pratense* L.). Alle onderzochte variëteiten meer of minder vatbaar, n.l.: Trèfle violet de Bretagne (Vilm.), Roosendaalse (v. d. Have), Brabantse (v. d. Have), Overblijvende (v. d. Have), Sild. Rødkløver Hersnap St. (Denemarken), Tennessee disease resistant (Dr. A. J. Pieters), Maasklaver (G. Z. V.), Noord-Franse (Hommo ten Have), Poolse (Hommo ten Have), Remontant (Hommo ten Have), witbloeiende roode klaver (Prof. Mayer Gmelin). Misschien was Maasklaver wel het minst vatbaar en waren Roosendaalse, Brabantse en Overblijvende het meest vatbaar; dit is echter moeilik uit te maken.

Witte klaver (*Tr. repens* L.). Alle onderzochte witte klavers totaal onvatbaar, met een enkele uitzondering. Onderzocht zijn: Trèfle blanc (Vilm.), Witte klaver (v. d. Have), Hvidkløver Morsø St. (Denemarken), Friese (G. Z. V.), Limburgse (G. Z. V.), Poolse (Hommo ten Have). Slechts in witte klaver (v. d. Have), Limburgse en Poolse werden resp. 2, 1 en 2 planten gevonden, die uiterst zwak, doch duidelik waren aangetast.

Zweedse Bastaardklaver (*Tr. hybridum* L.). Zoowel Trèfle d'Alsike (Vilm.) als Zweedse Bastaard (v. d. Have) wel iets aangetast, maar de ziekte breidt zich niet uit. Beide dus niet geheel onvatbaar, doch wel in hooge mate resistent.

Inkarnaatklaver (*Tr. incarnatum* L.). De onderzochte inkarnaatklavers waren alle vatbaar, vertoonden echter onderling tamelik groote verschillen. Trèfle incarnat hâtif Farouche (Vilm.) werd zeer weinig aangetast, Trèfle incarnat tardif (Vilm.) iets sterker en Trèfle incarnat très tardif à fleurs blanches (Vilm.) vrij sterk. Inkarnaatklaver (v. d. Have) was weer meer resistent. Het onderzoek van de inkarnaatklavers werd bemoeilikt, doordat alle zonder uitzondering zoowel in 1925 als in 1926 sterk werden aangetast door meeldauw, onder omstandigheden, dat alle andere onderzochte klavers vrij van deze ziekte bleven. Ook voor meeldauw bestaan dus zeer frappante verschillen in vatbaarheid.

Lucerne (*Med. sativa* L.). Provencer lucerne (v. d. Have) bleek absoluut onvatbaar.

Hopperupsklaver (*Med. lupulina* L.). Zoowel Sneglebaelg F. D. B. St. (Denemarken) als Duitse gele hopperupsklaver (Hommo ten Have) waren als kiemplant onvatbaar, werden echter later als volwassen plant vrij sterk vatbaar en schenen nogal sterk van de ziekte te lijden.

Rolklaver (*Lotus corniculatus* L.). Rolklaver uit Italië (Hommo ten Have) en van niet vermelde herkomst (Turkenburg) waren beide geheel onvatbaar.

Wondklaver (*Anthyllus vulneraria* L.) van TURKENBURG was geheel onvatbaar.

Esparcette (*Onobrychus sativa* LAM.) van TURKENBURG werd duidelik aangetast, zonder echter klaarblijkelik van de ziekte veel te lijden.

Serradella (*Ornithopus sativus* BROT.) van TURKENBURG werd niet aangetast.

Resumeerende zien wij dus, dat — zeer in het algemeen — vatbaar zijn: roode klaver, inkarnaatklaver, hopperupsklaver (als volwassen plant), esparcette. Zeer resistent is Zweedse bastaard, terwijl geheel of vrijwel geheel onvatbaar zijn: witte klaver, lucerne, hopperups (als kiemplant), rolklaver, wondklaver en serradella. Men houde in het oog, dat de resultaten omtrent esparcette, wondklaver en serradella op slechts één proefjaar betrekking hebben.

Bepalen wij ons verder tot de roode klaver, dan valt op te merken, dat groote individueele verschillen in de mate van vatbaarheid steeds weer opvallen Het gelukt hoogst zelden een groep van 15 planten van eenige variëteit in een kas met één infektie alle ziek te maken. En wanneer de meeste zijn aangetast, dan nog zijn er groote verschillen waar te nemen in de mate, waarin de verschillende planten onder de ziekte lijden. In veldwaarnemingen valt het vaak op, dat in sterk aangetaste perceelen hier en daar planten staan, die wel ziektesymptomen vertoonen, doch overigens normaal groeien. Een speciale proef over deze kwestie is in 1925 genomen door 246 Roosendaalse roode klaver-planten in een kas te infekteeren op 11, 20 en 25 Juni. Er vielen tengevolge van vreterij 21 planten weg. Van de 225 resteerende waren op 24 Juni 29 ziek, op 25 Juni 7 meer, op 27 Juni 42 meer, op 29 Juni 54 meer en op 1 Juli 93 meer. De planten werden vervolgens in de volle grond geplaatst en gedurende 1925 en 1926 nagegaan op de mate van ontwikkeling der ziekte. Aanmerkelike verschillen werden waargenomen, die zich echter moeilik in getallen laten uitdrukken. Als algemeen resultaat kan worden vermeld, dat geen plant absoluut onvatbaar is gebleken, doch dat er groote verschillen bestaan in de mate van vatbaarheid.

Een tweede proef, geheel analoog opgezet als de boven beschrevene, werd 14 Juli 1925 begonnen. Vermoedelik door de hooge kastemperatuur werd ook na 8 keer infekteeren slechts een gedeelte der planten ziek (verg. p. 281). Op het veld uitgepoot in zieke omgeving werden echter alle weer min of meer ziek en vertoonden gelijke verschillen als in de eerste proefreeks waren opgetreden.

Alles te zamen nemende valt dus te konkludeeren, dat de stengelbrandziekte in de eerste plaats roode klaver aantast, terwijl ook enkele andere gewassen (inkarnaat, hopperups als volwassen plant, esparcette) in meerdere of mindere mate vatbaar zijn. Zeer resistent is Zweedse bastaard, terwijl witte klaver, lucerne, hopperups als kiemplant, rolklaver, wondklaver en serradella zoo goed als geheel onvatbaar zijn.

In de verschillende roode klavers — speciaal onderzocht is de Roosendaalse — komen groote individueele verschillen voor wat betreft de mate van vatbaarheid; geheel onvatbare planten zijn echter niet gevonden, wèl planten, die slechts in geringe mate onder de ziekte leden.

VI. ANDERE KLAVER-ANTHRACNOSE-SCHIMMELS.

Voordat KIRCHNER (17) in 1902 *Gloeosporium caulivorum* beschreef, had in 1880 PECK (29) reeds een andere Gloeosporium beschreven, n.l. *Gl. Trifolii*. Dit is reeds vermeld op p. 269 in de paragraaf over de geschiedenis der ziekte.

In een mij ontoegankelik gebleven publikatie hebben BAIN en ESSARY in 1905 als nieuwe klaverparasiet beschreven: *Colletotrichum Trifolii* [verg. STEVENS en HALL (42)]. In 1914 vond O'GARA (28) een Colletotrichum op roode klaver en bastaardklaver in Utah, verschillend van *C. Trifolii* BAIN door het bezit van veel grootere conidiën en setae. Dit is *C. destructivum* O'GARA, de vierde klaver anthracnose-schimmel.

BAUDYS (3) vermoedt, dat alle vier deze schimmels identiek kunnen zijn; hij schijnt geen speciale proeven te hebben genomen over deze kwestie. Dit deed MONTEITH (26) met betrekking tot *Gl. caulivorum* K. en *C. Trifolii* BAIN en hij vond, dat de eerste meer aangepast is aan een gematigd klimaat, de tweede meer aan een warm klimaat.

Mijn proeven over de verwantschap der vier anthracnoseschimmels moesten zeer beperkt blijven, doordat de verschillende organismen niet waren te krijgen in virulente vorm. Miss SAMPSON zond een in Aberystwyth geïsoleerde *Gl. caulivorum* K., welke in groeiwijze op agar zoo sterk afweek van de Hollandse schimmel, dat eenige tijd noodig was om de omstandigheden voor fruktifikatie te leeren kennen. Toen het organisme in voldoende mate sporen vormde — hetgeen op kersenagar geschiedde door in de schaal op vier of vijf plaatsen te enten — bleek het in herhaalde infektieproeven niet virulent. Hetzelfde was het geval met een door Dr. JOHN MONTEITH in Wisconsin geïsoleerde *Gl. caulivorum* K. Ook deze kultuur week in habitus nogal sterk

af van de Hollandse schimmel, vormde echter biezonder rijkelik sporen op verschillende substraten, doch — zooals reeds gezegd — bleek niet virulent. Een eveneens door Dr. MONTEITH gezonden kultuur van *C. Trifolii* BAIN tenslotte was zeer virulent. In groei-habitus is deze schimmel steeds gemakkelik te onderscheiden van de Hollandse *Gl. caulivorum*-kultuur en hij verschilt er ook van in de snellere groei bij bepaalde temperaturen en de rijkere sporenvorming. Speciaal werd echter het gedrag ten opzichte van verschillende klaversoorten en variëteiten nagegaan en wel t.o.v. dezelfde klavers als in het vorige hoofdstuk zijn beschreven, met uitzondering van Witbloeiende roode klaver (Prof. MAYER GMELIN) en wondklaver (TURKENBURG), van welke partijen geen zaad meer aanwezig was. De proef werd in 1926 genomen op dezelfde wijze als, gelijktijdig en in vergelijking met de in het vorige hoofdstuk beschreven vatbaarheidsproef. Enkele frappante verschillen zijn voor den dag gekomen. Van de — alle vatbare — roode klavers was de Maasklaver wel een der meest vatbare, terwijl deze juist t.o.v. *Gl. caul.* tot de minst vatbare behoort. De Zweedse bastaardklavers schenen nog iets resistenter dan t.o.v. *Gl. caul.*, alhoewel duidelike aantasting plaats had. De inkarnaatklavers schenen iets vatbaarder. Het sterkste verschil echter vormde wel de lucerne, die voor *Gl. caul.* totaal onvatbaar is, doch door *Coll. Trif.* sterk werd aangetast [verg. BARKER en NEAL (49) en NEAL (50)]. Verder was hopperupsklaver voor *Coll. Trif.* reeds als kiemplant vatbaar. Witte klaver, rolklaver, esparcette en serradella gedroegen zich t.o.v. beide schimmels gelijk, dus esparcette vatbaar, de anderen onvatbaar.

Een verder verschilpunt was dat in veel gevallen de aantasting van *Coll. Trifolii* veel heviger verliep dan van *Gl. caulivorum* en spoediger tot een geheel afsterven van de plant leidde.

De beide organismen *Gloeosporium caulivorum* K. en *Colletotrichum Trifolii* BAIN — waarvan het tweede nog niet in Nederland is gevonden — vormen dus twee wel zeer verschillende organismen. Hoe hun relatie tot *Gloeosporium Trifolii* PECK en tot *Colletotrichum destructivum* O'GARA is, valt zonder nadere experimenten niet te zeggen.

VII. BESTRIJDING.

In de litteratuur is het volgende omtrent de bestrijding der klaverstengelbrandziekte vermeld.

Vroeg afmaaien van aangetaste velden wordt aanbevolen door MALKOFF (20), FULTON (12) en door APPEL en RIEHM (2).

Fulton (12) raadt vruchtwisseling aan. Een te dichte stand moet volgens Broz (4) worden vermeden. Het gebruik van onbesmet zaad wordt door Fulton (12) en Schoevers (40) aanbevolen; de Plantenziektenkundige Dienst in Nederland houdt veldkeurig voor gewenst, terwijl Schoevers (40) en Baudys (3) zaaizaadontsmetting aanbevelen, zonder evenwel een goede methode te vermelden.

Tenslotte wijzen Fulton (12), Schoevers (40), Kathleen Sampson (39) en Ware (45) op het selekteeren van resistente rassen, terwijl Bain en Essary (48), Vavilov (44) en Pieters (31) goede resultaten vermelden in deze richting.

Bezien wij de genoemde middelen nader, dan moet van te voren even worden opgemerkt, dat dierekte bestrijdingsmiddelen — bespuiten, bestuiven e.d. — zeer moeilik zouden zijn toe te passen, doordat de klaverstengels in een eenigszins welig gewas niet meer zijn te bereiken met het middel; verder zal een dierekte bestrijding wel niet ekonomies toepasbaar zijn. Er rest dus een bestrijding door kultuurmaatregelen.

Het vroeg afmaaien van velden, zoodra de ziekte zich sterk begint uit te breiden, verdient zeer zeker alle aanbeveling, vooral wanneer de eerste snede wordt aangetast. Men voorkomt hierdoor een verder snel uitbreiden, terwijl het mogelik is, dat de omstandigheden voor infektie later in het jaar ongunstig zijn, zoodat het verdere gewas gezond blijft.

In verband met de overwintering in de stoppel en misschien in de grond is vruchtwisseling zeer zeker gewenst. Deze heeft echter in Nederland geregeld plaats, zoodat er geen speciale nadruk op behoeft te worden gelegd.

Op p. 281 werd reeds vermeld, dat een dichte stand zeer sterk de infektie bevordert. Een te dichte stand moet dus zooveel mogelik worden vermeden en dit kan behalve door niet te dicht zaaien ook geschieden door een mengsel uit te zaaien van roode klaver en een minder of niet vatbaar gewas, b.v. witte klaver, Zweedse bastaardklaver of — wat hier en daar in de praktijk wel wordt aangetroffen — met grassen. Men kan in de laatst bedoelde gevallen nog wel een groote vochtigheid hebben bij dichte stand, doch de schimmel kan zich dan van plant tot plant lang niet zoo snel uitbreiden dan wanneer uitsluitend vatbare planten op het veld staan. Voor een keuze van een gewas, waarmee gemengd kan worden, vergelijke men de resultaten van het vatbaarheids-onderzoek, vermeld op p. 284—289. Voor velden, waarvan zaad gewonnen moet worden, is de menging natuurlik niet toe te passen, wel voor de voederteelt.

De resultaten over de overgang van de ziekte met het zaad,

vermeld op p. 281—284, doen het ten sterkte in twijfel trekken of er tegen het gebruik van zaad, afkomstig van zieke velden, bezwaar bestaat. In verband hiermede moet het worden betwijfeld of bij de veldkeuring het voorkomen van klaverstengelbrand reden tot afkeuring mag zijn. Groote verschillen in aantasting tussen verschillende velden zouden kunnen wijzen op verschillen in vatbaarheid en men zou door afkeuring van de sterker aangetaste velden dus een soort massa-selektie uitoefenen. Men is echter nooit zeker van een geringere vatbaarheid, zonder dat kunstmatige infektieproeven worden genomen. Aan de andere kant leveren sterk aangetaste velden betrekkelik weinig en vaak heelemaal geen zaad. Treedt de ziekte in een voor zaadwinning bestemd perceel sterk op, dan doet men misschien beter snel af te maaien en het gewas zoo mogelik als voeder te gebruiken. Iets anders is het, wanneer men bevreesd is, dat ziektekiemen worden overgebracht met stengelresten, die als verontreinigingen tussen het zaad voorkomen. Het is daarom in ieder geval gewenst om zeer goed geschoond zaad uit te zaaien. Misschien dat zaaizaadontsmetting de schimmel, die eventueel op stengelresten voorkomt, kan dooden; het gebruik van schoon zaad is echter waarschijnlijk wel eenvoudiger.

Het kweeken van resistente vormen verdient natuurlik alle aanbeveling, doch alvorens men deze kan kweeken, moeten ze eerst gewonnen zijn. Er ligt in het selekteeren van resistente vormen nog een ruim arbeidsveld open. De verschillen in vatbaarheid, vermeld in hoofdstuk V, p. 284, die aangetroffen worden tussen de verschillende individu's van een klavervariëteit, geven veel hoop op succes in deze richting. Verder zou gedacht kunnen worden aan de mogelikheid om door kruising van een onvatbare en een vatbare klaver — b.v. roode en witte — de eigenschap „onvatbaarheid" over te brengen op de aanvankelik vatbare variëteit. In hoeverre dit werkelik te verwezenliken is, kan slechts door het experiment worden uitgemaakt en dergelike experimenten kosten zeer veel tijd. Een speciale moeilikheid is verder gelegen in de vrijwel absolute zelf-steriliteit van roode klaver (verg. Mayer Gmelin (22)], waardoor vooral de selektie bemoeilikt zal worden.

Resumeerende komen als bestrijdingsmiddelen in aanmerking:

1. het spoedig afmaaien bij een snelle uitbreiding der ziekte;
2. vruchtwisseling;
3. een niet te dichte stand der roode klaver, eventueel verkregen door menging met onvatbare gewassen (witte klaver, Zweedse bastaardklaver, grassen);
4. het gebruik van zeer goed geschoond zaad;

5. het kweeken van resistente rassen, waarschijnlik te verkrijgen door selektie of kruising.

VIII. SAMENVATTING DER VOORNAAMSTE RESULTATEN.

1. De stengelbrandziekte van roode klaver vertoont zich als zwarte vlekken op de stengels en bladsteelen, vaak gevolgd door een omknikken en een verdroogen van de boven de aangetaste plek gelegen plantendeelen. De naam „stengelbrand" komt overeen met het Duitse „Stengelbrenner"; in verschillende landen heet de ziekte „klaver-anthracnose", in Engeland bovendien „scorch". De ziekte is in de meeste landen van Europa en in verschillende van de Vereenigde Staten van Noord-Amerika gevonden; in Nederland is zij zeer algemeen verbreid. De schade bestaat uit verlies aan blad en stengelmateriaal en uit geringe of geen zaadvorming. Groote schade komt slechts in bepaalde jaren voor en kan dan bestaan uit een totale oogstvernietiging.

2. De klaverstengelbrandziekte in Nederland wordt veroorzaakt door *Gloeosporium caulivorum* K. Het organisme groeit goed op allerlei kunstmatige voedingsbodems, zooals pruimenagar, gesteriliseerde plantenresten, gesteriliseerde grond. In kultuur worden tiepiese pykniden gevormd, in de natuur daarentegen acervuli; verder zijn de conidiën in kultuur aanmerkelik kleiner dan de in de natuur gevormde. De minimum, optimum en maximum temperatuur voor mycelium-groei bedragen resp. 4°, 20° en 28° C. Licht beïnvloedt de groeisnelheid van het mycelium niet, wel de groeiwijze. Sterke sporenkieming in water heeft plaats bij 16°, 20° en 24°; minimum en maximum der sporenkieming liggen nabij 4°, resp. 28°. Licht beïnvloedt de sporenkieming niet.

3. Het organisme kan in de klaverstoppel overwinteren. Het groeit goed op gesteriliseerde grond en kan dan een temperatuur van —22° C. gedurende 14 dagen verdragen; hiermee is de mogelikheid aangetoond, dat het organisme ook in den grond overwintert. Vanuit besmette grond kan aantasting plaats hebben.

4. De levensgeschiedenis van de parasiet is als volgt. In het voorjaar worden van uit de klaverstoppels of de grond jonge groeiende plantendeelen aangetast. Hierop ontstaan sporen, die weer nieuwe infekties kunnen teweeg brengen. In de herfst en winter blijft de schimmel over in de stoppel of in de grond en tast van hier uit in het volgende voorjaar de planten aan.

5. Voor infektie gunstige omstandigheden zijn een temperatuur van omstreeks 20° C. en zeer groote vochtigheid (dichte

stand van het gewas). Daarentegen schijnt droogte de planten vatbaarder te maken.

6. Verschillende proeven maken het zeer waarschijnlik, dat de ziekte niet met het zaad wordt overgebracht. Vele onderzoekers beweren het tegendeel, zonder evenwel exakte proeven te hebben genomen. De mogelikheid bestaat echter, dat tussen niet goed geschoond zaad resten van aangetaste stengelstukjes voorkomen, van welke infekties kunnen uitgaan; bewezen is dit laatste niet.

7. Behalve roode klaver (*Tr. pratense* L.) zijn vatbaar voor *Gl. caulivorum* K.: inkarnaatklaver (*Tr. incarnatum* L.), hopperupsklaver (*Med. lupulina* L.) als volwassen plant, esparcette (*Onobrychus sativa* Lam.). Zeer resistent is Zweedse bastaardklaver (*Tr. hybridum* L.), terwijl zoo goed als absoluut onvatbaar zijn: witte klaver (*Tr. repens* L.), lucerne (*Med. sativa* L.), hopperupsklaver (*Med. lupulina* L.) als kiemplant, rolklaver (*Lotus corniculatus* L.), wondklaver (*Anthyllus vulneraria* L.) en serradella (*Ornithopus sativus* Brot.). In de groepen van vatbare klavers, b.v. in de Roosendaalse roode klaver, komen groote individueele verschillen voor wat betreft de mate van vatbaarheid, alhoewel geen absoluut onvatbare vormen zijn gevonden.

8. Als klaver-anthracnose-schimmels zijn naast *Gl. caulivorum* K. ook beschreven: *Gl. Trifolii* Peck, *Colletotrichum Trifolii* Bain en *Colletotrichum destructivum* O'Gara. Vergelijking tussen *Gl. caulivorum* K. en *C. Trifolii* Bain wees uit, dat deze twee organismen zeer verschillend zijn, zoowel in kultuureigenschappen als in hun gedrag t.o.v. verschillende klaversoorten en variëteiten.

9. Als kultuurmaatregelen ter bestrijding komen in aanmerking:

1. het spoedig afmaaien bij een snelle uitbreiding der ziekte;
2. vruchtwisseling;
3. een niet te dichte stand der roode klaver, eventueel verkregen door menging met onvatbare gewassen (witte klaver, Zweedse bastaardklaver, grassen);
4. het gebruik van zeer goed geschoond zaad;
5. het kweeken van resistente rassen, waarschijnlijk te verkrijgen door selektie of kruising.

Een woord van dank worde hier gebracht aan de heeren Ir. N. H. H. Addens te Winschoten (thans te Utrecht), F. C. Huyser te Woudrichem, R. W. Janssen te Roosendaal. Ir. J. D. Koeslag te Wageningen, Prof. H. K. H. A. Mayer Gmelin

te Wageningen en Dr. J. Oortwijn Botjes te Oostwold, die door het afstaan van materiaal of door hulp bij het bezoeken aan zieke klavervelden dit onderzoek hebben gesteund.

SUMMARY: OBSERVATIONS ON CLOVER-ANTHRACNOSE.

I. INTRODUCTION
(SCOPE OF EXPERIMENTS; LITERATURE; THE GROWTH OF RED CLOVER).

In the foregoing paper the clover-anthracnose — especially of red clover — has been treated as a whole, although the hibernation of the fungus, the transmission of the disease by the seed and the susceptibility of several clovers were treated in more detail. The literature was discussed in the chapters or paragraphs, treating of the relative part of the problem. At the end of each part of this summary reference is made to the numbers on the list of literature (p. 298) relating to the subject discussed.

Red clover is the most important forage crop in Holland. It is sown in spring in wheat, barley, rye or oatfields; in the autumn of the first year the clover-field is generally used as meadow. The following year the plants are mown twice or sometimes more; then the field is ploughed. When the plants are grown for seed, this is harvested from the second cutting.

II. GENERAL CONSIDERATION OF THE CLOVER-ANTHRACNOSE.

§ 1. *Symptoms*. Diseased plants show black spots of the stems and petioles, often accompanied by falling down and drying up of the above parts of the plant. Cp. fig. 1, 2, 3, 4 and 13.

Literature: nrs. 1, 2, 3, 12, 33, 40, 43, 45.

§ 2. *Names*. In many countries the disease is called „anthracnose". In England it is also known as „scorch"; in Germany and Holland the names „Stengelbrenner", resp. „stengelbrand" (= burning of the stem) are used.

§ 3. *History*. In 1880 Peck (29) described *Gloeosporium Trifolii*, which parasite was later on said to be the cause of clover anthracnose in Denmark, Austria and Germany. Kirchner (17), however, in 1902 discovered a new species, namely *Gl. caulivorum*, as the cause of clover-anthracnose in Germany. In Holland, where it was first found by Schoevers (40) in 1914, this fungus is the causal organism.

§ 4. *Geographical distribution*. The disease has been observed in most countries of Europe and in many parts of the United States of America. In Holland it is widely distributed.

Literature: nrs. 3, 4, 7, 9, 11, 13, 15, 16, 18, 19, 20, 21, 24, 30, 31, 32, 33, 35, 36, 37, 39, 40, 42, 43, 45.

§ 5. *Economic significance*. The damage, caused by the disease, consists of loss of stems and foliage and of little or no formation of seed. Great damage only occurs in certain years, but then it may consist of total loss of crop.

Literature: nrs. 3, 9, 18, 19, 21, 23, 25, 33, 45.

III. THE CAUSAL ORGANISM.

§ 1. *Isolation. Gloeosporium Caulivorum* KIRCHNER could be easily isolated from diseased stems by disinfecting them superficially with corrosive sublimate and putting them into Petri dishes with prune-agar. Inoculation of seedling plants and of full grown ones with the organism, produced the typical symptoms of the disease (fig. 2, 3 and 4).

§ 2. *Characteristics of the organism in culture.* The fungus grows well on prune-agar, sterilized parts of different plants and on sterilized soil. It forms typical pycnidia in culture (fig. 6 and 7), on the other hand acervuli in nature (fig. 8). Moreover the conidia formed in culture are considerably smaller than those formed in nature (cp. table I on p. 273). No perfect-form has been found. Pycnidia often produce fine rows of spores (fig. 9), sometimes however explosions of spores are formed (fig. 10). The cardinal temperatures for growth of the mycelium are resp. 4°, 20° and 28° C. (cp. table II on p. 274). Light does not influence the rapidity of mycelial growth; the general habit of growth, however, is different whether in electric light or in the dark (fig. 14). The cardinal temperatures for the germination of spores in water are about the same as those for mycelial growth; a rather good germination was found at relatively low temperatures, e.g. 8° and 12°. The germination of spores is not influenced by light. Fig. 15 shows a variation found sometimes in cultures on prune-agar; it was not constant (fig. 16).

Literature: nrs. 3, 17, 20, 23, 26, 46, 47.

§ 3. *The hibernation.* The first manner in which the fungus can hibernate is in the leaf stalk, as was first suggested by KATHLEEN SAMPSON (39). Another manner is the overwintering in the soil. This was shown by growing the organism in sterilized soil (fig. 11) in which condition it could endure a temperature of —22° C. for at least two weeks. After reinoculation into Petri dishes with prune-agar, normal growth immediately started (fig. 12). Infection occurred from artificially inoculated soil (fig 13).

IV. THE DISEASE.

§ 1. *Inoculations.* Inoculations on seedling plants were performed in the greenhouse by spraying them with spores. Full grown plants could be inoculated by putting a part of a fungus-culture to a stem or a petiole, wrapping it in cotton wool and fastening it with a plaster. The stems or petioles to be inoculated were not cut open; MEHNER (23) and FULTON (12) thought this to be necessary. The results of inoculation-experiments suggested the following life-cycle of the causal organism: In spring, young growing parts of the clover plants are infected from overwintered diseased stalks. On the new infected parts, spores are formed by which the disease spreads. In autumn and winter the fungus lives in stalks or in the soil, from which it comes in spring when attacking young parts of the plants.

§ 2. *External circumstances.* Infection is favoured by a temperature of about 20° C. and by great moisture (closeness of the crop). Drought, on the other hand, seems to make the plants more susceptible.

Literature: nrs. 3, 12, 26.

§ 3. *The carrying of the disease by the seed.* Many investigators think that the disease is spread by the seeds of contaminated plants. Their results, however, may also be accounted for, by differences in

susceptibility among the investigated clovers. As far as exact experiments were undertaken, „no carrying" by the seed could be observed and also not by the writer's experiments. More than 3000 plants, grown from seed of 32 fields, many of which were heavily infected, were healthy. Seed from artificially inoculated plants also gave nothing but healthy plants, in total 374. It is probable, however, that fragments of diseased plants are carried among the seeds and so spread the disease; this probability has not yet been proved.

Literature: nrs. 1, 2, 3, 10, 15, 17, 18, 23, 25, 33, 35, 36, 37, 39, 40, 45, 46, 47.

V. THE SUSCEPTIBILITY OF SEVERAL SPECIES AND VARIETIES OF CLOVER.

In a series of inoculation experiments, made in 1925 and repeated in 1926, the susceptibility of a number of clovers was studied. The following results were obtained. All forms of *Trifolium pratense* L. tested are more or less susceptible. Besides, *Tr. incarnatum* L., *Medicago lupulina* L. (as full grown plant) and *Onobrychus sativa* LAM. are susceptible. *Tr. hybridum* L. is very resistant, whereas almost absolute immunity is shown by: *Tr. repens L.*, *Medicago sativa* L., *Med. lupulina* L. (as seedling plant), *Lotus corniculatus* L., *Anthyllus vulneraria* L., *Ornithopus sativus* BROT.

Although all forms of red clover tested were susceptible, great differences in the degree of susceptibility were found, especially among the plants of each variety. The relative susceptibility of more than 400 plants of the variety „Roosendaalsche" has been studied in more detail. None proved to be immune, but great differences occurred in the degree of susceptibility and, in regard to this, in the damage caused by the fungus.

Literature: nrs. 3, 9, 10, 12, 15, 17, 18, 20, 23, 25, 26, 33, 35, 36, 37, 39, 40, 41, 42, 44, 45, 47.

VI. OTHER FUNGI CAUSING CLOVER-ANTHRACNOSE.

Besides *Gloeosporium Trifolii* PECK — already mentioned p. 295 — and *Gl. caulivorum* KIRCHNER — the organism described in the foregoing pages — two more clover anthracnose fungi have been described, namely *Colletotrichum Trifolii* BAIN and *Coll. destructivum* O'GARA. The writer showed *Gl. caulivorum* K. and *Coll. Trifolii* B. to be widely different in their characteristics in culture and especially in their behaviour towards several clovers. The most striking difference is the great susceptibility of *Medicago sativa* L. to *Coll. Trifolii* B., this crop being immune from *Gl. caulivorum* K. The relation of the other fungi, mentioned above, could not be studied, because no cultures of them were obtainable.

Literature: nrs. 3, 11, 16, 24, 26, 28, 29, 32, 35, 36, 37, 38, 42, 43, 46, 49, 50.

VII. METHODS OF CONTROL.

In consequence of the literature on the combating of the disease and of the writer's own observations, the following methods of control may be recommended:

1°. mowing the fields, immediately, when the disease begins to spread heavily;

2°. rotation of crops;
3°. not to have the red clover planted too closely, to be obtained by not sowing too closely or by mixing with resistant or immune crops, as white clover, Alsike clover, grasses;
4°. the use of a seed, entirely free from dirt;
5°. the growing of resistant varieties, evidently to be obtained by selection or crossing.

Literature: nrs. 1, 2, 4, 12, 20, 31, 39, 40, 44, 45, 48.

The writer is indebted to Miss KATHLEEN SAMPSON at Aberystwyth and Dr. JOHN MONTEITH JR. at Madison, Wisc., for supplying him with their cultures; and to Dr. A. J. PIETERS at Washington for sending him a sample of the „Tennessee disease-resistant clover".

WAGENINGEN, Augustus 1926. *Instituut voor Phytopathologie, Laboratorium voor Mycologie en Aardappelonderzoek.*

GECITEERDE LITTERATUUR.
(LITERATURE CITED)

1. ANONYMUS: Plantenziekten, waarmede rekening moet worden gehouden bij de veldkeuring. (Versl. en Med. v. d. Plantenz. Dienst No. **11**, 1920, 12 p., 3 pl.; zie p. 84.)
2. APPEL, O. UND RIEHM, H.: Atlas der Krankheiten der landwirtschaftlichen Kulturpflanzen, 1e Reihe. Berlin, Paul Parey, 1924, 46 p. tekst; zie p. 16—17 en plaat 7.
3. BAUDYS, E.: O spále či anthraknose Tetele. [Anthracnose van klaver] (Ochrana Rostlin **5** (1), 1924, 1—4, 1 fig.; ref.: Rev. Appl. Myc. **4** (6), 1925, 351—352 en Zsch. Pfl. Krankh. **35** (5—6), 1925, 227.)
4. BROZ, O.: Ueber den Kleeschädling Gloeosporium caulivorum Krch. (Wiener landw. Ztg. **66**, 1916, 378; ref.: Zsch. Pfl. Krankh. **28**, 1918, 72—73.)
5. BRUYN, HELENA L. G. DE: The overwintering of Phytophthora infestans (Mont.) De By. (Phytopathology **16**, 1926, 121—140, 3 fig.)
6. CHAMBERLAIN, CHARLES J.: Methods in Plant Histology. Chicago, Univ. Press, 4th edit., 1924, 349 p., 118 fig.
7. COTTON, A. D.: Report on the occurrence of fungus, bacterial and allied diseases on crops in England and Wales for the years 1920—'21. (Min. of Agric. and Fish., Miscell. Publ. no. **38**, 1922, 104 p., zie p. 44.)
8. DOYER, C. H.: Untersuchungen über die sogenannten Pestalozziakrankheiten und die Gattung Pestalozzia De Not.. Diss. Utrecht. Amsterdam, bij H. G. Paris, 1925, 72 p., 25 fig., 2 pl.
9. ERIKSSON, JAKOB: Die Pilzkrankheiten der landwirtschaftlichen Kulturpflanzen. Leipzig, Reichenbach, 1913, 246 p., 133 fig.; zie p. 178—179 en fig. 210.

10. Franck, W. J.: Vermeerdering van de productiviteit onzer graslanden. Herkomst van rood en wit klaverzaad. (De Veldbode no. **1213**, 1926, p. 331—333.)
11. Frank und Sorauer: Jahresbericht des Sonderausschusses für Pflanzenschutz, 1899. (Arb. D. L. Ges. **50**, 1899, 258 p.; zie p. 120.)
12. Fulton, H. R.: An anthracnose of red clover caused by Gloeosporium caulivorum Kirch. (Science N.S. **31** (802), 1910, 752.)
13. Gardner, Max W.: Indiana Plant diseases, 1919. (Proc. Ind.a Acad. Sci. 1919, p. 131—156; zie p. 142. Ibid. 1920, p. 189—208; zie p. 194.)
14. Giltay, E.: Die Pincenez-loupe und ihre Verwendung. (Med. Landb.hoogesch. **24** (3), 1923, 8 p., 2 fig.)
15. Hegyi, Deszo: A lóhere anthrakózisa (fekélykór) [Anthracnose van roode klaver]. (Mezögazdasági Szemle **33** (2), 1915, 55—58.)
16. Johnson, A. G. and Haskell, R. J.: Diseases of cereal and forage crops in the united states in 1919. (Plant Disease Bull., suppl. **8**, 1920, 18 p.; zie p. 72.)
17. Kirchner, O.: Bemerkungen über den Stengelbrenner des Rotklees. (Zsch. Pfl. Krankh. **12**, 1902, 10—14, 2 fig.)
18. Linhart, G.: Die Ausbreitung des Stengelbrenners am Rotklee. (Zsch. Pfl. Krankh. **12**, 1902, 281—282.)
19. Lobik, A. J.: Der Einflusz der Schmarotzerpilze auf die Kleeernte. (Ber. d. Phytopath. Zentralstation d. K. Bot. Gartens, Peter der Grosse 1915; ref.: Zsch. Pfl. Krankh. **28**, 1918, 176—177.)
20. Malkoff, Konstantin: Notiz über einige in Göttingen beobachtete Pflanzenkrankheiten, 1. Der Stengelbrenner des Rotklees. (Zsch. Pfl. Krankh. **12**, 1902, 282—283.)
21. Marchal, M. E.: Rapport sur l'activité de la Station de Phytopathologie de l'Etat durant les années 1913 à 1914. (Bull. Stat. de Phytopath. de l'Etat, no. **1**, 1920, 32 p.; zie p. 15.)
22. Mayer Gmelin, H.: Eerste reeks van onderzoekingen met betrekking tot de roodeklaververedeling. (Med. Rijks Hoogere L. T. en B. school **7**, 1914, 149—165.)
23. Mehner, Br.: Der Stengelbrenner (Anthracnose) des Klees. (Zsch. Pfl. Krankh. **11**, 1901, 193—196.)
24. Melchers, L. E.: Diseases of cereal and forage crops in the United States 1924. (Plant Disease Reporter, suppl. **40**, 1925, 106—191; zie p. 180—181.)
25. Minderhoud, G.: Het landbouwbedrijf op de Groninger klei. Deventer, Æ. E. Kluwer, 1917, 148, p., geïll.; zie p. 71—72.
26. Monteith Jr., John: Colletotrichum Trifolii and Gloeosporium caulivorum on clover. (Phytopathology **16**, 1926, 71—72.)
27. Muller, H. R. A.: Onderzoekingen naar den invloed van eenige ontsmettingsmiddelen op de kiemkracht van tomaten- en selderijzaad. (Tijdschr. Plantenz. **31**, 1925, 75—85, 5 fig.)
28. O'Gara, P. J.: A disease of red clover and alsike clover caused by a new species of Colletotrichum. (Phytopathology **4**, 1914, 410.)
29. Peck, C. H.: (33th Ann. Rep. State Museum of Nat. History, Jan. 1880, New York.)
30. Pethybridge, Geo H.: Report on the occurrence of fungus, bacterial and allied diseases of crops in England and Wales for the years 1922—1924. (Min. of Agric. and Fish., Miscell. Publ. no. **52**, 1926, 97 p.; zie p. 37—38.)

31. Pieters, A. J.: Clover Failure. (U. S. Dept. Agric. Farmer's Bull. **1365**, 1924, 24 p., 5 fig.; zie p. 20—21.)
32. Pipal, F. J.: A list of plant diseases of economic importance in Indiana with bibliography. (Proc. Ind.a Acad. Sci. 1915 (1916), p. 379—413; zie p. 386.)
33. Ritzema Bos, J. en Schoevers, T. A. C.: Ziekten en Beschadigingen der landbouwgewassen, deel V. Groningen en Den Haag, J. B. Wolters, 4e druk, 1923, 262 p., geïll.; zie p. 236—239.
34. Rodengate Marissen, J. Z. ten: Bijzondere Plantenteelt, 2e deel. Groningen, J. B. Wolters, 1907, 171 p.; zie p. 71—93.
35. Rostrup, E.: Oversigt over Sygdommenes Optraeden hos landbrugets Avlsplanter i Aaret 1895, no. 12. (Tidsskr. f. Landbrugets Plante avl **3**, 1896, 123—150; ref.: Zsch. Pfl. Krankh. **7**, 1897, 155—159, zie p. 158.)
36. ——— Oversigt over Landbrugsplanternes Sygdomme i 1896, no. 13. (Tidsskr. f. Landbrugets Plante avl. **4**, 1897; ref.: Zsch. Pfl. Krankh. **8**. 1898, 278—280, zie p. 279).
37. ——— Oversigt over Landbrugsplanternes Sygdomme i 1899. (Tidsskr. f. Landbrugets Plante avl **7**, 1900, 13—32; ref.: Zsch. Pfl. Krankh. **11**, 1901, 103—104, zie p. 103.)
38. Saccardo, P. A.: Sylloge Fungorum. Patavii, 1884. Vol. 3. Sylloge Sphaeropsidearum et Melanconiearum, 860 p.; zie p. 705.
39. Sampson, Kathleen: Red clover: Investigations on Anthracnose due to Gloeosporium caulivorum. (Univ. Coll. Wales, Welsh Plant Breeding Sta. Ser. H., no. **1**, 1919—'21, p. 83—87.)
40. Schoevers, T. A. C.: De klaverstengelbrand (anthracnose der klaver), eene tot dusver in Nederland nog onbekende klaverziekte. (Tijdschr. Plantenz. **20**, 1914, 81—90.)
41. Stapledon, R. G.: Plant breeding work at Aberystwyth. (Journ. Min. of Agric. **27** (7), 1920, 630—639, geïll.; zie p. 636—638.)
42. Stevens, F. L. and Hall, J. G.: Diseases of economic plants. New York, Macmillan, 1921, 507 p., 237 fig.; zie p. 324, 330—331.
43. Stewart, F. C.: Notes on New York Plant Diseases. (N. Y. Agric. Exp. Sta. Bull. **463**, 1919, 157—188; zie p. 173—174, pl. 1.)
44. Vavilov, N.: Immunity of Plants to infectious diseases. Russ. met Engels résumé. (Ann. Acad. Agron. Petrovskoé 1918, 239 p., 1 pl.; zie p. 34.)
45. Ware, W. M.: „Scorch" or Gloeosporium-disease of red clover. (Journ. Min. of Agric. 30 (9), 1923, 833—836, 2 fig.)
46. Westerdijk, Joh.a: Anthracnose van klaver. (Phyt. Lab. W. C. Scholten, Jaarversl. 1916, 11 p.; zie p. 7—8.)
47. ——— Anthracnose van klaver. (Phyt. Lab. W. C. Scholten, Jaarversl. 1917, 13 p.; zie p. 5—6.)
48. Bain, S. M. and Essary, S. H.: Selection for disease-resistant clovers.(Bull. Agr. Exp. Sta Tennessee, no. **75**, vol. XIX, 1906.)
49. Barker, H. D. and Neal, D. C.: Plant diseases in Mississippi during 1923. (Quart. Bull. State Plant Board Mississippi **3** (4), 1924, 13-33; ref.: Rev. Appl. Myc. **4** (2), 1925, 82.)
50. Neal, D. C.: Annual Report of Plant Pathology Department. 37th. Ann. Rep. Mississippi Agric. Exp. Sta., June 30, 1924, p. 28; ref.: Rev. Appl. Myc. **5** (7), 1926, 406.)

AANHANGSEL: ONTOEGANKELIK GEBLEVEN LITTERATUUR.

ANONYMUS: Warum der Rotklee in diesem Jahre keinen zweiten Schnitt gegeben hat? (Stengelbrennerpilz.) (Landw. Ztg. Westf. Lippe **81**, 1924, 615.)

BAIN, S. M. AND ESSARY, S. H.: A preliminary note on clover diseases in Tennessee. (Science N. S. **22**, 1905.)

——— A new anthracnose of alfalfa and red clover. (Journ. Mycology **12**, 1906.)

——— Four years results in selection for a disease resistant clover. (Science 1910, p. 756.)

ESMARCH, F.: Der Stengelbrenner des Klees. (Sächs. landw. Zsch. **72**, 1924, 7—8.) [1])

FULTON, H. R.: (Pennsylvania Sta. Rep. 1912, p. 249.)

JENKINS, B.: A disease of red clover caused by Gloeosporium caulivorum. (Thesis pres. f. Honours Degree at Aberystwyth: unpublished.)

TEMPEL, W.: Auftreten von Kleestengelbrenner und Kleewurzelhalsfliege. (Die kranke Pflanze **1**, 1924, 132—133.) [1])

VERKLARING DER FIGUREN.

Fig. 1. Stengelbrandzieke roode klaver-plant; natuurlike infektie.
„ 2. Kunstmatig met *Gloeosporium caulivorum* K. geïnfekteerde roode klaver-plant; de pijl duidt de plaats der infektie aan.
„ 3. Kunstmatig geïnfekteerde bladsteel.
„ 4. Kunstmatig geïnfekteerde kiemplant.
„ 5. Schimmelgroei uit aangetaste stengelstukjes op pruimenagar.
„ 6. Pyknide van *Gl. caulivorum* K., gevormd op gesteriliseerde aardappelstengel.
„ 7. Dezelfde pyknide als in fig. 6 afgebeeld, meer naar het midden doorgesneden.
„ 8. Onder natuurlike omstandigheden gevormd acervulus van *Gl. caulivorum* K.
„ 9. Sporenrank, tevoorschijn tredend uit een pyknide van *Gl. caulivorum* K.
„ 10. Sporen-explosie uit een pyknide van *Gl. caulivorum* K.
„ 11. Groei van *Gl. caulivorum* K. op gesteriliseerde grond, n.l. van links naar rechts: veen, bladaarde, klei.
„ 12. *Gl. caulivorum* K., groeiend op schalen met pruimenagar, 2 dagen na enting uit buizen, die gedurende 14 dagen aan —22° C. zijn blootgesteld. Van links naar rechts eerste rij afkomstig van bladaarde en van klei, tweede rij van veen en van zand.
„ 13. Resultaten van grond-infektie met *Gl. caulivorum* K.; links: kontrole; rechts: geïnfekteerde grond.
„ 14. Kultures van *Gl. caulivorum* K. op pruimenagar.
a. in donker gegroeid;
b. in elektries licht gegroeid.
„ 15. Kultuur van *Gl. caulivorum* K. op pruimenagar, een witte sektor vertoonend.

[1]) Na het ter perse gaan ontvangen.

„ 16. Tweede overentingen uit de kultuur, in fig. 15 afgebeeld.
a. afkomstig uit de donkere sektor;
b. afkomstig uit de witte sektor.

N. B. Fig. 6 t/m 10 zijn mikro-foto's, 6, 7 en 8 bij 600 × vergrooting opgenomen, 9 en 10 bij 120 ×.
Foto's 1 t/m 4 en 14 zijn van J. v. d. Peppel Bzn.

EXPLANATION OF FIGURES.

Fig. 1. Red clover plant, attacked by anthracnose; natural infection.
„ 2. Red clover plant, artificially inoculated with *Gloeosporium caulivorum* K.; the arrow denotes the place of inoculation.
„ 3. Artificially inoculated petiole.
„ 4. Artificially inoculated seedling.
„ 5. Growth of fungus out of contaminated stems on prune-agar.
„ 6. Pycnidium of *Gl. caulivorum* K., grown on sterilized potato-stem.
„ 7. The same pycnidium als shown in fig. 6, cut nearer its centre.
„ 8. Acervulus of *Gl. caulivorum* K., grown under natural circumstances.
„ 9. Row of spores, produced by a pycnidium of *Gl. caulivorum* K.
„ 10. Explosion of spores out of a pycnidium of *Gl. caulivorum* K.
„ 11. Growth of *Gl. caulivorum* K. on sterilized soil, namely from left to right: peat, leaf mould, clay.
„ 12. *Gl. caulivorum* K., growing in Petri-dishes with prune-agar, two days after inoculation out of tubes which have been exposed to —22° C. for 14 days. From left to right first row transferred from tubes with leaf mould and from clay, second row from peat and from sand.
„ 13. Results of soil-inoculation with *Gl. caulivorum* K.; left: control; right: inoculated soil.
„ 14. Cultures of *Gl. caulivorum* K. on prune agar.
a. grown in the dark;
b. grown in electric light.
„ 15. Culture of *Gl. caulivorum* K. on prune-agar, showing a white sector.
„ 16. Second reïnoculations from the culture, shown in fig. 15.
a. from the dark sector.
b. from the white sector.

N. B. Fig. 6 u/t 10 are microphoto's; 6, 7 and 8 600 ×, 9 and 10 120 ×.

Fig. 1

Fig. 2

Fig. 3

Fig. 4

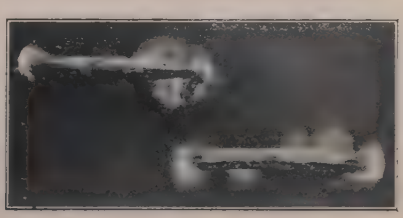

Fig. 5

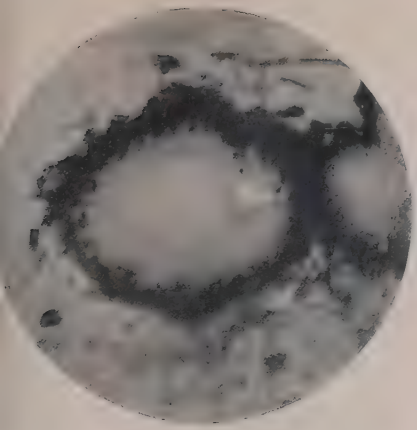

Fig. 6

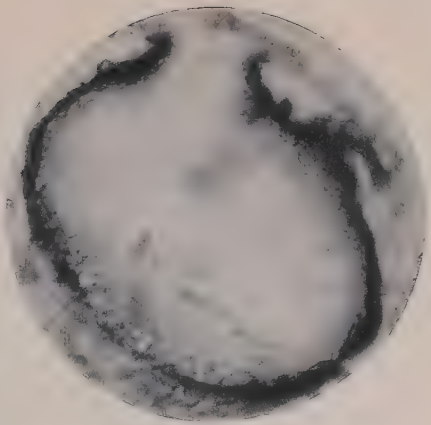

Fig. 7

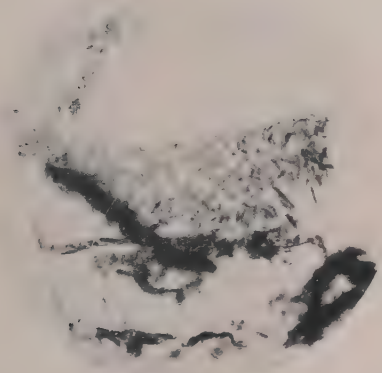

Fig. 8

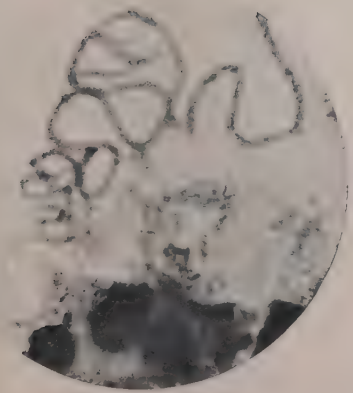

Fig. 9

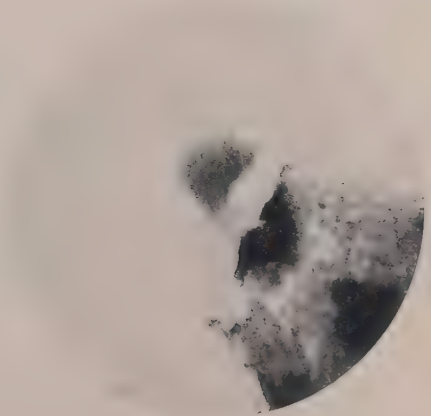

Fig. 10

Fig. 11

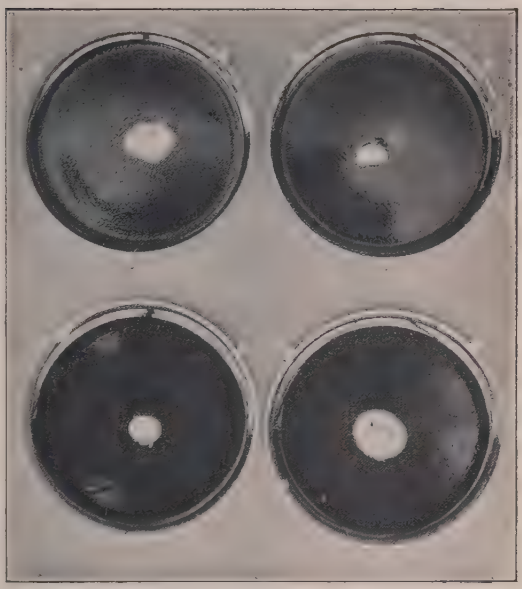

Fig. 12

Fig. 13

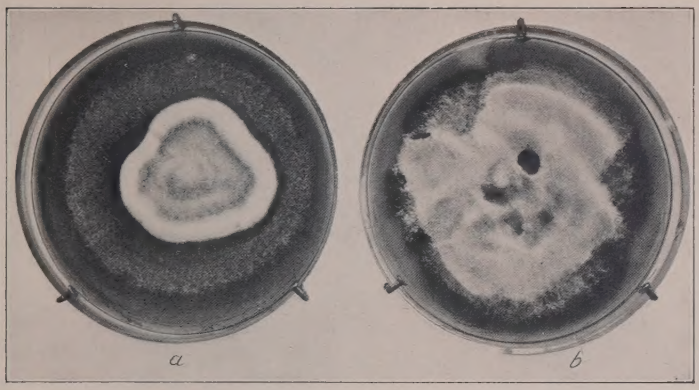

Fig. 14

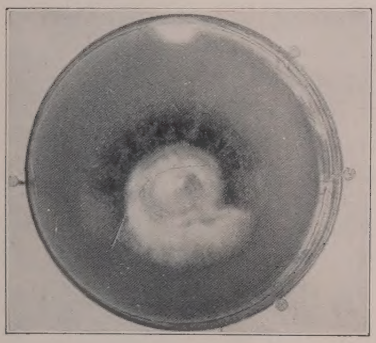

Fig. 15

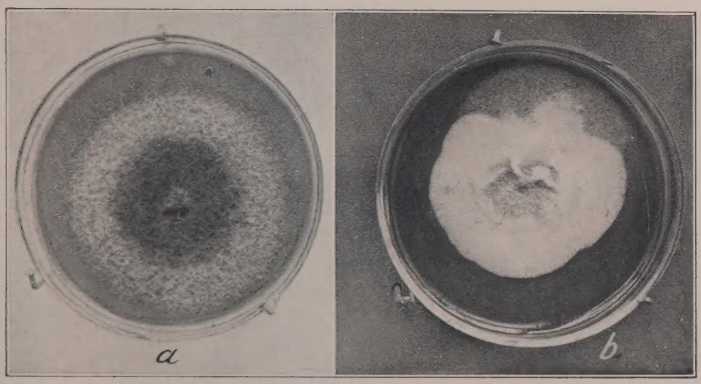

Fig. 16

BEKNOPTE AANTEEKENINGEN OP PLANTENZIEKTENKUNDIG GEBIED.

DOOR

J. RITZEMA BOS

56. Septobasidium bogoriense Pat. op jonge kinaboomen. In „Cinchona, korte mededeelingen betreffende de Kina-cultuur", onder redactie van het Gouvernements Kina-proefstation, jaargang II, no. 1 (Mei 1925) blz. 46—48 komt voor eene verhandeling van Dr. CH. BERNARD over dit onderwerp. Schrijver heeft, vóór hij de zwam *Septobasidium bogoriense* had gedetermineerd, haar in de „Mededeelingen van het Theeproefstation", no. 11, in 't kort beschreven onder den naam „*Grijze dadap-schimmel*", omdat hij haar voor het eerst op verschillende theeondernemingen vrij algemeen op dadap aantrof. Naderhand bleek de zwam op een zeer groot aantal plantensoorten voor te komen, o.a. op verschillende kultuurgewassen als thee, koffie, djeroek, cassave, op verschillende Leguminosen als dadap, *Tephhrosia candida*, *Sesbania aegyptiaca*, *Crotalaria anagyroïdes*; verder op *Stachytarpheta*, *Lantana*, verschillende in 't wild groeiende struiken en zelfs op boomen in het oerbosch. Dr. GÄUMANN determineerde de zwam als *Septobasidium bogoriense Pat.*; hij publiceerde zijne desbetreffende onderzoekingen in „De Thee", III, blz. 48. Dr. RANT vond haar op de bast van kinaboomen (*Cinchona*), beschreef haar onder den naam *Septobasidium mompa Tanaka*, maar hield haar voor geheel onschadelijk. („Mededeelingen van het Gouvernements Kinaproefstation", II, 1914, blz. 21). Maar in een kinaproeftuin op Sumatra trad deze zwam eenigen tijd geleden zeer overvloedig op en veroorzaakte daar niet onbelangrijke schade; de schrijver constateerde ook een schadelijk optreden op een thee-onderneming.

Een eigenlijke parasiet is *Septobasidium* niet; deze zwam leeft als epiphyt en vormt aan de oppervlakte van takken en stammen een grijs, korstachtig overtreksel. Zoolang de schors intact blijft, dringt het mycelium niet in de weefsels van den stam of tak door, en de zwam kan er vrij gemakkelijk van afgenomen worden. In de jonge stadia blijft de bast onder de korstvormige zwammassa gezond. De nadeelige invloed van de *Septobasidium* bestaat hierin, dat de bast onder deze korstvormige bedekking voortdurend vochtig blijft, en daardoor gemakkelijker vatbaar wordt voor ziekten, veroorzaakt door andere organismen. Zeer dikwijls bijv. wordt *Septobasidium* gevolgd door een zwaren aanval van „djamar oepas" (*Corticium salmonicolor*) en, vooral bij thee, van „red rust" (*Cephaleuros virescens*), die dan het

afsterven der takken tengevolge heeft. Maar zelfs zonder het optreden van echte parasieten kan *Septobasidium* primair de takken zwaar beschadigen doordat de bast onder de zwambedekking vochtig blijft en er aldaar verrottingen optreden. Niet zelden kan men na den aanval van deze zwam barsten, knobbels en kankerachtige vergroeiingen op de takken waarnemen. In den kina-proeftuin, waar Dr. BERNARD het geval bestudeerde, was deze beschadiging zeer ernstig. De ziekte was door abnormaal vochtige weersgesteldheid in de hand gewerkt. Twee jaar later, toen de omstandigheden inmiddels gunstiger waren geworden, waren de afgestorven takken verdwenen en hadden de planten weer een gezond uiterlijk. Het spreekt echter vanzelf dat in een jongen kinatuin het afsterven van een groot aantal takken een niet onbelangrijke oogstderving meebrengt.

De door *Septobasidium* gevormde myceliumkorst bestaat uit verschillende lagen: de buitenste laag is viltachtig, vrij homogeen, witgrijs naar buiten, donkerbruin naar binnen; daaronder volgt eene uit zuiltjes bestaande onderlaag, die lichter of donkerder chocoladekleurig is; onmiddellijk op de bast ligt een dun vrij los laagje van bruin mycelium.

Slechts bij wonden kan men de zwamdraden tot op eene zekere diepte in de weefsels vinden.

De geheele korst kan 2 m.M. dik zijn en ook dikker. In het bovenste gedeelte, dat de grijze buitenlaag vormt, vormen zich de sporen, die reeds in vochtige lucht kunnen kiemen.

De bestrijding is niet gemakkelijk. Bij thee kan de door *Septobasidium* gevormde korst tegelijk met de mossen en korstmossen bij het schoonmaken der stammen na den snoei weggekrabd worden; ook bij jonge kinaplanten zou men deze methode kunnen toepassen. Als de ziekte niet sterk verbreid is, doet men goed, de zieke takken af te snijden en ter plaatse te verbranden.

Op grootere boomen moet men van deze bestrijdingsmiddelen afzien; maar daar zullen de nadeelige gevolgen der aantasting allicht, volgens BERNARD, ook niet ernstig wezen.

Bespuitingen met Bordeauxsche pap gaven geen resultaat, evenmin als bespuitingen met carbolineum.

In vochtige streken, waar het optreden der ziekte te vreezen is, zal het goed zijn, in de nabijheid der jonge kinatuinen *Stachytarpheta* te verwijderen en geen Leguminosen, die voor *Septobasidium* vatbaar zijn, als groenbemesters te verbouwen. Men zal in dat geval *Erythrina* (dadap), *Tephrosia candida* en vooral *Crotalaria anagyroïdes* niet gebruiken. Laatstgenoemde plant is zeer gevoelig voor de aantasting door *Septobasidium*, meestal gevolgd door djamar oepas. —